



**BÁRBARA COSTA
CAMARÃO**

**ESTUDO DA REPRODUÇÃO DE PEQUENOS
CETÁCEOS ATRAVÉS DA MORFOLOGIA DO OVÁRIO**

**STUDY OF SMALL CETACEAN REPRODUCTION
BASED ON OVARIAN MORPHOLOGY**

Declaração

Declaro que este relatório é integralmente da minha autoria, estando devidamente referenciadas as fontes e obras consultadas, bem como identificadas de modo claro as citações dessas obras. Não contém, por isso, qualquer tipo de plágio quer de textos publicados, qualquer que seja o meio dessa publicação, incluindo meios eletrônicos, quer de trabalhos académicos.



**BÁRBARA COSTA
CAMARÃO**

**ESTUDO DA REPRODUÇÃO DE PEQUENOS
CETÁCEOS ATRAVÉS DA MORFOLOGIA DO OVÁRIO**

**STUDY ON SMALL CETACEAN REPRODUCTION
BASED ON OVARIAN MORPHOLOGY**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Biologia Marinha, realizada sob a orientação científica da Doutora Catarina Eira, equiparada a Investigador Auxiliar do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro

Apoio do CPRAM – ECOMARE,
Universidade de Aveiro

Apoio da Sociedade Portuguesa
de Vida Selvagem



Apoio do projeto **LIFE+ MarPro**
(NAT/PT/00038) co-financiado pela
Comissão Europeia



À família. O pilar que me sustenta, o leme que me guia e a âncora que me mantém firme nas adversidades da vida.

O júri

Presidente

Doutora Ana Isabel Lillebo Batista
Investigadora Principal em Regime Laboral, Universidade de Aveiro

Vogais

Doutora Sílvia Raquel da Silva Monteiro
Técnica, Sociedade Portuguesa de Vida Selvagem (Aguente Principal)

Doutora Catarina Isabel da Costa Simões Eira
Equiparada a Investigadora Auxiliar, Universidade de Aveiro (orientadora)

Agradecimentos

Em primeiro lugar gostaria de agradecer ao CPRAM – ECOMARE, à Sociedade Portuguesa de Vida Selvagem e ao Projeto LIFE+ MarPro pela oportunidade de desenvolver este trabalho e me permitir trabalhar numa temática que eu tanto adoro.

Um sincero e gigante obrigada à minha orientadora, Catarina Eira, por, em primeiro lugar, me ter aceite, pelo tempo disponibilizado, por toda a ajuda, contribuições, ensinamentos, conselhos e opiniões dadas e principalmente pela pessoa fantástica que é e por ser um exemplo para mim.

Quero também agradecer ao Professor José Vingada e à Marisa Ferreira, pela oportunidade dada, pelos ensinamentos e por me terem acolhido nesta grande família.

Andreia, não sei o que seria de mim sem ti. Obrigada, pela enésima vez, por toda a ajuda, pelo apoio, pelos conselhos, pelas críticas, e principalmente pela amizade. Obrigada também a ti, Lúcia, pelo tempinho que disponibilizaste a ler e corrigir o que escrevi.

Obrigada do fundo do coração aos meus pais, que permitiram que tudo isto fosse possível, à minha irmã, pela força e apoio e ao meu Salvador, que alegra os meus dias e me mostra o verdadeiro sentido da palavra amor. Agradeço também aos meus avós por todo o amor transmitido e por sempre acreditarem em mim e aos meus tios e primos pela força.

Aos amigos (impossível enumerar todos), obrigada de coração, por terem sempre uma palavra de apoio e motivação, pelos conselhos, pela ajuda, por acreditarem em mim e fazerem de mim uma pessoa melhor. São a família que eu escolhi e sei que tenho os melhores ao meu lado.

Não podia, no entanto, deixar de destacar as melhores do mundo, Sara e Vanessa, que são como irmãs para mim e sem as quais já não imagino a minha vida. Um obrigada do tamanho do mundo, pela paciência, pela força, pela amizade, pelas críticas e correções, pelas vezes que me ouviram e aconselharam, pela ajuda no abstrat (my Irish girl) e por não me deixares desaparecer, literalmente, (minha dietista), foram essenciais durante os últimos meses.

Em último lugar, queria agradecer a mim própria, pela força que tenho e por ter conseguido alcançar mais um objetivo.

Palavras-chave

Pequenos Cetáceos; *Delphinus delphis*; *Stenella coeruleoalba*; *Phocoena phocoena*; *Tursiops truncatus*; Reprodução; Morfologia do ovário.

Resumo

O aumento da pressão humana sobre os ecossistemas marinhos tem agravado os impactos antropogénicos a que os pequenos cetáceos estão sujeitos, tornando fundamental o estudo dos parâmetros de história de vida e da dinâmica populacional das espécies, que suportem a elaboração de medidas de conservação e mitigação eficazes.

O presente trabalho teve como principal objetivo caracterizar o estado reprodutor das fêmeas de Golfinho-comum, Golfinho-riscado, Boto e Roaz, da costa continental portuguesa, uma vez que são as espécies com maiores taxas de arrojamento.

Foram utilizados ovários de cetáceos arrojados mortos, na zona de estudo, que foram examinados externamente e internamente para contagem e medição de Corpos Lúteos (CL) e Corpos Albicans (CA). Dos indivíduos arrojados e dos ovários foram ainda retiradas diversas informações permitindo uma melhor caracterização da estrutura dos ovários, análise da maturidade das fêmeas e estimativa de comprimento total de maturação. Foram analisadas um total de 388 fêmeas das quatro espécies em estudo, sendo o Golfinho-comum e o Boto as espécies mais representadas. Ocorreu uma grande variabilidade no número de arrojamentos ao longo dos anos de estudo o que pode estar associado às condições meteorológicas ou à captura accidental por artes de pesca que foi a causa de morte mais provável em cerca de 70% dos indivíduos analisados.

Foi registada uma elevada percentagem de fêmeas imaturas, indicando uma incidência de mortalidade nas classes etárias mais jovens levando a uma reduzida taxa de recrutamento para a classe reprodutora. Relativamente às gónadas, foi possível constatar que o ovário esquerdo torna-se ativo em primeiro lugar e é tendencialmente maior e mais desenvolvido que o direito, incluindo muitas vezes a totalidade dos corpos acumulados. Além disso, as diferenças na composição dos CAs podem estar na origem da variabilidade da sua persistência, levando a que apenas CAs de gestação se mantenham permanentemente visíveis.

As diversas pressões que afetam atualmente as populações de pequenos cetáceos levaram ao declínio de algumas espécies, particularmente o Boto, e tendo em conta a mortalidade das fêmeas imaturas, não se prevê um aumento na sua taxa de reprodução, nem no número de efetivos na população da costa portuguesa. No futuro, este trabalho contribuirá para estudos mais amplos que permitirão conhecer quais as secções de cada população que serão mais afetadas pelas várias ameaças e compreender a evolução das abundâncias das espécies estudadas na costa Portuguesa.

Keywords

Small cetaceans; *Delphinus delphis*; *Stenella coerueoalba*; *Phocoena phocoena*; *Tursiops truncatus*; Reproduction; Ovarian morphology.

Abstract

In view of the increasing human pressures on marine ecosystems, and particularly those on small cetaceans, studies on their life history and population dynamics are fundamental to support the elaboration of effective conservation and mitigation measures.

The aim of this study was to characterize the reproductive status of Common dolphin, Striped dolphin, Harbour porpoise and Bottlenose dolphin females in the coast of mainland Portugal, where these species present the highest stranding rates.

Ovaries of cetaceans, stranded dead in the study area, were examined externally and internally for counting and measurement of two structures the *Corpus Luteum* (CL) and the *Corpus Albicans* (CA). Data were collected from the stranded females and from their ovaries, allowing for a better knowledge of the ovarian structure, for an analysis of female maturity and providing length at sexual maturity estimates.

A total of 388 females from the four studied species were analysed, although Common Dolphin and Harbour Porpoise samples were the most representative. There was a high variability in the number of strandings during the study years, which may be associated with the meteorological conditions or accidental catch by fishing gear, which was the most probable cause of death in about 70% of the analysed individuals.

A high percentage of immature females was detected, indicating that mortality is prevailing among the younger age groups leading to a reduced recruitment rate to the reproductive class. Concerning the gonads, it was possible to observe that the left ovary is the first to become active, with a tendency to be larger and more developed than the right one, often including all the accumulated scars. Moreover, the differences in the composition of the CAs may be the source of the variability of their persistence, leading only gestational CAs to remain permanently visible.

The different pressures affecting small cetacean populations have led to the decline of some species, particularly the Harbour Porpoise. Given the mortality of immature females, neither a reproduction rate increase nor a population increase is foreseeable in the Portuguese coast. In the future, this work will contribute to broader studies that will allow us to know which sections of each population will be most affected by the various threats and to understand the evolution of the abundances of small cetacean species in the coast of Portugal.

Índice

ABREVIATURAS	XIX
LISTA DE FIGURAS	XXI
LISTA DE TABELAS	XXV
 CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO	 1
1.1 Pequenos Cetáceos	2
1.1.1 Parâmetros da história de vida dos pequenos cetáceos	2
1.1.2 Ocorrência de pequenos cetáceos em Portugal	3
1.1.3 Espécies mais observadas	4
1.1.3.1 Golfinho-comum, <i>Delphinus delphis</i>	5
1.1.3.2 Golfinho-riscado, <i>Stenella coeruleoalba</i>	7
1.1.3.3 Boto, <i>Phocoena phocoena</i>	8
1.1.3.4 Roaz, <i>Tursiops truncatus</i>	10
1.1.4 Principais ameaças aos pequenos cetáceos	12
1.2 Ciclo reprodutivo dos pequenos cetáceos	13
1.2.1 Ciclo do ovário	13
1.3 Morfologia das gónadas e sua utilização para estudos de reprodução	15
1.3.1 Utilização das gónadas para estudos de reprodução e conservação	20
1.4 Objetivos da tese	22
1.5 Estrutura da tese	22
 CAPÍTULO 2 – METODOLOGIA	 23
2.1 Área de estudo	23
2.2 Espécies em estudo	24
2.3 Análise morfológica dos ovários	24
2.4 Análise estatística dos dados	26
 CAPÍTULO 3 – RESULTADOS	 29
 CAPÍTULO 4 – DISCUSSÃO	 45
 CAPÍTULO 5 – PRINCIPAIS CONCLUSÕES	 55
 CAPÍTULO 6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	 57

Abreviaturas

CA – Corpo Albicans

CEE – Comunidade Económica Europeia

CL – Corpo Lúteo

cm – Centímetros

CPRAM – ECOMARE – Centro de Pesquisa e Reabilitação de Animais Marinhos do Ecomare

ECS – *European Cetacean Society*

EEA Grants – financiamento conjunto da Islândia, Liechtenstein e Noruega para os países da União Europeia e do Espaço Económico Europeu

et al. – Entre outros

Fig. – Figura

g – Gramas

ICNF – Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas

mm – Milímetros

mn – Milhas náuticas

PBR – *Potential Biological Removal*

POP's – *Persistent organic pollutants* (Poluentes Orgânicos Persistentes)

p.e. – Por exemplo

SPVS – Sociedade Portuguesa de Vida Selvagem

ZEE – Zona económica exclusiva

Lista de Figuras

Figura 1 – Golfinho-comum, *Delphinus delphis* (Fonte: Ionian dolphin project)

Figura 2 – Golfinho-riscado, *Stenella coeruleoalba* (Fonte: Ionian dolphin project)

Figura 3 – Boto, *Phocoena phocoena* (Fonte: Ionian dolphin project)

Figura 4 – Roaz, *Tursiops truncatus* (Fonte: Ionian dolphin project)

Figura 5 – Ciclo do ovário (Adaptado de Desai *et al.*, 2014)

Figura 6 – Ovário esquerdo de um Golfinho-comum imaturo.

Figura 7 – Interior de ovário esquerdo de um Golfinho-comum imaturo.

Figura 8 – Ovário esquerdo de um Golfinho-comum maduro. As setas mostram os CAs.

Figura 9 – Interior de ovário esquerdo de um Golfinho-comum maduro. As setas mostram os CAs.

Figura 10 – Ovário esquerdo de um Golfinho-comum maduro. As setas finas mostram os CAs e a seta grossa mostra o CL.

Figura 11 – Ovário esquerdo e direito de um Golfinho-comum maduro. As setas mostram os CAs apenas presentes no ovário esquerdo.

Figura 12 – Ovário esquerdo e direito de um Golfinho-comum imaturo (a) e ovário esquerdo e direito de um Golfinho-comum maduro (b). As setas mostram os CAs apenas presentes no ovário esquerdo.

Figura 13 – Mapa de Portugal com destaque das cidades Caminha, Peniche, Odeceixe e Vila Real de Santo António, que delimitam as zonas de atuação das redes regionais de arrojamentos.

Figura 14 – Medidas feitas aos ovários. C – comprimento; L – largura e H – altura (mm)

Figura 15 – Número de fêmeas das espécies analisadas, arrojadas entre 2002 e 2016

Figura 16 – Número de fêmeas analisadas de acordo com o ano de arrojamento.

Figura 17 – Número de fêmeas maduras e imaturas analisadas das quatro espécies em estudo.

Figura 18 – Gráfico de frequências cumulativas de fêmeas maduras, mostrando o comprimento estimado para que 50% das fêmeas de Golfinho-comum estejam sexualmente maduras.

Figura 19 – Gráfico de frequências cumulativas de fêmeas maduras, mostrando o comprimento estimado para que 50% dos Golfinhos-riscados (fêmeas) estejam sexualmente maduros.

Figura 20 – Gráfico de frequências cumulativas de fêmeas maduras, mostrando o comprimento estimado para que 50% dos botos (fêmeas) estejam sexualmente maduros

Figura 21 – Valores médios anuais do comprimento total (cm) das fêmeas de Golfinho-comum analisadas neste estudo.

Figura 22 – Valores médios anuais do comprimento total (cm) das fêmeas de Golfinho-riscado analisadas neste estudo.

Figura 23 – Valores médios anuais do comprimento total (cm) das fêmeas de Boto analisadas neste estudo.

Figura 24 – Regressões lineares entre o comprimento total das fêmeas de Golfinho-comum analisadas e o comprimento do ovário esquerdo (preto) e do ovário direito (cinza).

Figura 25 – Regressão linear entre o comprimento total das fêmeas de Golfinho-comum analisadas e a soma dos pesos do ovário e direito.

Figura 26 – Regressões lineares entre o comprimento total dos indivíduos analisados de Golfinho-riscado e o comprimento do ovário direito (cinza) e do ovário esquerdo (preto).

Figura 27 – Regressão linear entre o comprimento total dos indivíduos analisados de Golfinho-riscado e os pesos combinados do ovário e direito.

Figura 28 – Regressões lineares entre o comprimento total das fêmeas de Boto analisadas e o comprimento do ovário esquerdo (preto) e do ovário direito (cinza).

Figura 29 – Regressão linear entre o comprimento total dos indivíduos analisados de Boto e os pesos combinados do ovário e direito.

Figura 30 – Número total de corpos nos ovários de Golfinho-comum em relação aos comprimentos totais dos indivíduos

Figura 31 – Número de corpos nos ovários das fêmeas de Golfinho-riscado analisadas de acordo com o comprimento total das fêmeas.

Figura 32 – Número total de corpos nos ovários de Boto em relação aos comprimentos totais dos indivíduos

Lista de Tabelas

Tabela I – Comprimento total (cm) das fêmeas imaturas, maduras e total das espécies analisadas. DP, Desvio padrão; min-max, valores mínimos e máximos.

Tabela II – Peso (g) dos ovários das fêmeas imaturas, maduras e total das espécies analisadas. DP, Desvio padrão; min-max, valores mínimos e máximos.

Tabela III – Altura (mm) dos ovários das fêmeas imaturas, maduras e total das espécies analisadas. DP, Desvio padrão; min-max, valores mínimos e máximos.

Tabela IV – Largura (mm) dos ovários das fêmeas imaturas, maduras e total das espécies analisadas. DP, Desvio padrão; min-max, valores mínimos e máximos.

Tabela V – Comprimento (mm) dos ovários das fêmeas imaturas, maduras e total das espécies analisadas. DP, Desvio padrão; min-max, valores mínimos e máximos.

Tabela VI – Número de CAs e CLs nos ovários de fêmeas maduras e proporção de fêmeas maduras que continham CAs ou CLs nos ovários. DP, Desvio padrão; min-max, valores mínimos e máximos.

Tabela VII – Diâmetro (mm) médio dos CAs presentes nas fêmeas das espécies analisadas. DP, Desvio padrão; min-max, valores mínimos e máximos.

Tabela VIII – Comprimento total de maturação das fêmeas das espécies analisadas

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

O aumento da população Humana e das suas atividades nas zonas costeiras levaram a um incremento acentuado de pressões sobre os ecossistemas marinhos e costeiros. Consequentemente, existe uma necessidade cada vez maior de conhecer as populações de animais marinhos e compreender como estas populações são afetadas pelas atividades Humanas (Hutchings & Baum, 2005).

No caso dos cetáceos, algumas espécies apresentam comportamentos mais costeiros do que oceânicos, utilizando áreas com níveis de atividades humanas muito elevados (p.e.: zonas de pesca) (Halpern *et al.*, 2008; 2015). A avaliação do estado das populações de cetáceos torna-se fundamental para a futura criação de medidas de conservação. É extremamente importante perceber as mudanças que ocorrem na dinâmica de uma população e é essencial conhecer os diferentes parâmetros da história de vida da espécie em causa. De facto, os parâmetros da história de vida permitem compreender melhor a biologia da espécie, a sua relação com o meio ambiente em que se encontra, a estrutura populacional, o comportamento da espécie, o sistema de acasalamento e os efeitos antropogénicos a que a população está sujeita (Oli & Dobson, 2003).

A abundância de uma população depende da relação entre o número de nascimentos e imigrações e o número de mortes e emigrações. Como tal, os parâmetros da história de vida mais importantes e aqueles cujas variações mais influenciam a dinâmica populacional são as taxas de sobrevivência, quer dos adultos quer das crias, e todos os parâmetros relacionados com o processo de reprodução, uma vez que este é o processo biológico que garante a continuidade da população e que mais influencia a sua viabilidade (Fowler, 1984; Danil & Chivers, 2007; Westgate & Read, 2007; Dabin *et al.*, 2008; Chivers, 2009; Larese & Chivers, 2009; Murphy *et al.*, 2009; Tsuji *et al.*, 2013; Manlik *et al.*, 2016).

1.1 Pequenos Cetáceos

Os cetáceos são mamíferos marinhos pertencentes à ordem Cetacea (Brisson, 1762), uma das mais distintas e altamente especializadas (Reid *et al.*, 2003). Inclui Baleias, Botos e Golfinhos (Rowe, 2007) e constitui o grupo dominante de mamíferos marinhos em termos de diversidade e distribuição (Fordyce, 2009). A ordem Cetacea divide-se em duas grandes subordens, Odontoceti (Flower, 1867), que abrange todas as espécies que possuem dentes e Mysticeti (Cope, 1891), que inclui todas as espécies com barbas (Thewissen, 2009). Atualmente estão descritas 88 espécies de cetáceos, 74 das quais pertencem à subordem Odontoceti (Fordyce, 2009). Habitualmente, as várias espécies de cetáceos são divididas em pequenos ou grandes cetáceos, sendo considerados como pequenos cetáceos todas as espécies com dentes à exceção do cachalote (Gillespie, 2001).

Devido aos vários impactos antropogénicos a que os pequenos cetáceos estão sujeitos, é fundamental ter um conhecimento alargado dos seus parâmetros de história de vida e da sua dinâmica populacional para a criação de medidas de conservação e mitigação corretas e eficazes (Danil & Chivers, 2007; Westgate & Read, 2007; Dabin *et al.*, 2008; Chivers, 2009; Larese & Chivers, 2009; Murphy *et al.*, 2009; Tsuji *et al.*, 2013).

1.1.1 Parâmetros da história de vida dos pequenos cetáceos

Em termos de parâmetros de história de vida, apesar da grande diversidade de espécies e de estas poderem ser bastante distintas, os pequenos cetáceos têm em comum diversas características. Tal como o nome indica, apresentam geralmente pequenas ou médias dimensões, entre os 1,5 e os 8,5 metros de comprimento total (Hooker, 2009) e são animais com ciclos de vida longos, refletindo-se numa longevidade que varia entre os 12 anos (p.e.: Boto, *Phocoena phocoena* (Linnaeus, 1758)) e os 80 anos (p.e.: Orca, *Orcinus orca* (Linnaeus, 1758)) (Chivers, 2009; Hooker, 2009).

No que concerne à distribuição, os pequenos cetáceos são animais bastante cosmopolitas, podendo ser encontrados em *habitats* distintos e em todos os oceanos. Algumas espécies possuem uma ampla distribuição, ocorrendo em diversas zonas do globo, enquanto outras podem ocorrer apenas em zonas específicas, como é o caso da Beluga,

Delphinapterus leucas (Pallas, 1776), cuja distribuição é restrita às zonas polares. Ao contrário das baleias com barbas que têm extensas rotas migratórias, os pequenos cetáceos não executam migrações extensas e sincronizadas. No entanto, são animais de elevada mobilidade que viajam em busca de alimento ou de melhores condições, existindo espécies que apresentam padrões migratórios sazonais (Hooker, 2009).

No que diz respeito à reprodução, a idade em que as fêmeas atingem a maturidade sexual está fortemente relacionada com o tamanho dos indivíduos e com a longevidade da espécie, podendo variar entre os 3 anos (p.e.: Boto) e os 17 anos (p.e.: Orca) (Chivers, 2009; Hooker, 2009). O tempo de gestação varia entre os 7 e os 17 meses, seguido por um período de amamentação com duração de 8 a 24 meses, sendo que em média as fêmeas reproduzem-se a cada 2 ou 3 anos (Hooker, 2009). O sucesso reprodutivo é bastante elevado logo após ser atingida a maturidade sexual, decrescendo ao longo dos anos, uma vez que os ciclos reprodutores se tornam mais longos (Murphy *et al.*, 2009).

O estudo dos parâmetros relacionados com a reprodução de pequenos cetáceos no seu *habitat* natural torna-se extremamente difícil e dispendioso, uma vez que são organismos marinhos de elevada mobilidade. Além disso, alguns métodos de estudo mais intrusivos podem interferir com o funcionamento normal do ecossistema, podendo provocar *stress*, afetar as funções vitais dos organismos e consequentemente a fiabilidade dos dados recolhidos. Desta forma, a maioria da informação disponível provém do estudo morfológico e anatómico do aparelho reprodutor de organismos mortos, recolhidos de eventos de arrojamento nas zonas costeiras (p.e.: Bryden *et al.*, 1984).

1.1.2 Ocorrência de pequenos cetáceos em Portugal

A informação referente à distribuição e abundância de pequenos cetáceos ao longo da costa atlântica da Península Ibérica e particularmente em Portugal era, até recentemente, bastante restrita (Certain *et al.*, 2008; Stephanis *et al.*, 2008; Azevedo, 2010; Pierce *et al.*, 2010; Spyrakos *et al.*, 2011). De facto, até 2007, os dados de arrojamentos eram a principal fonte para a descrição da distribuição de cetáceos em águas portuguesas (Ferreira, 2007). A partir desse ano foram iniciadas campanhas sistemáticas de censos e, mais tarde, foram incluídas campanhas anuais de censos aéreos para obter estimativa de

abundâncias e densidades populacionais de cetáceos (Pereira, 2015). Os censos aéreos são metodologias aplicadas no âmbito de diversos projetos que têm sido desenvolvidos na costa continental portuguesa de forma a melhorar o conhecimento sobre o meio marinho. O projeto SafeSea (co-financiado pelas EEA Grants) integrou um programa de monitorização, entre 2008 e 2011 na zona centro de Portugal, e permitiu a avaliação do estado das populações de cetáceos assim como das capturas acidentais de cetáceos em artes de pesca (Vingada *et al.*, 2011). O projeto *LIFE+ MarPro* (co-financiado pela Comissão Europeia), iniciado em 2011, visa não só atividades de monitorização das espécies alvo e dos seus *habitats*, mas também a estruturação de medidas para a conservação e gestão das populações de cetáceos e aves marinhas. De facto, os objetivos do projeto *LIFE+ MarPro* incluem a implementação de ações para a redução de conflitos entre a atividade piscatória e as espécies de pequenos cetáceos e a definição de áreas de conservação dentro da Zona Económica Exclusiva (ZEE) de Portugal (Santos *et al.*, 2012; Pereira, 2015).

Apesar da dificuldade associada à observação e ao estudo da abundância de pequenos cetáceos, têm sido feitos fortes avanços ao longo da última década, e recentemente, foi possível verificar que ocorrem 28 espécies de cetáceos nas águas de Portugal Continental (Araújo *et al.*, 2015).

1.1.3 Espécies mais observadas

O projeto SafeSea e a sua continuação através do projeto *Life+ MarPro* possibilitou a implementação de campanhas anuais de avaliação das densidades e distribuição de cetáceos até às 50 mn de distância da costa. Desta forma, foi possível verificar que a espécie mais abundante e com maior distribuição nas águas de Portugal Continental é o Golfinho-comum, *Delphinus delphis* (Linnaeus, 1758), seguido do Golfinho-riscado, *Stenella coeruleoalba* (Meyen, 1833), do Boto, *Phocoena phocoena* (Linnaeus, 1758), da Baleia-comum, *Balaenoptera acutorostrata* (Lacépède, 1804), da Baleia-anã, *Balaenoptera physalus* (Linnaeus, 1758) e do Roaz, *Tursiops truncatus* (Montagu, 1821), (Santos *et al.*, 2012). Em 2011 foi possível realizar uma campanha em zonas *offshore* de Portugal Continental, entre as 50 mn e as 220 mn, tendo-se verificado a importância do Golfinho-riscado, do Zífiu, *Ziphius cavirostris* (Cuvier, 1823), do Golfinho-pintado, *Stenella frontalis*

(Cuvier, 1829), do Roaz, do Golfinho-comum, das Baleias-de-bico (*Mesoplodon sp.*) e da Baleia-comum (Santos *et al.*, 2012; Araújo *et al.*, 2015).

O Golfinho-comum, o Golfinho-riscado, o Boto e o Roaz, devido à sua distribuição e aproximação à costa, tornam-se também as espécies com as maiores taxas de arrojamento em Portugal Continental, sendo a captura accidental por parte da frota que opera na costa portuguesa uma das mais importantes causas de arrojamento (Ferreira 2007; Ferreira *et al.*, 2012).

1.1.3.1 Golfinho-comum, *Delphinus delphis* (Linnaeus, 1758)



Figura 1 – Golfinho-comum, *Delphinus delphis*
(Fonte: Ionian dolphin project ¹)

O Golfinho-comum (Fig. 1) é um dos cetáceos mais abundantes da costa continental portuguesa (Brito *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2012). As fêmeas adultas desta espécie medem em média entre 164 a 193 centímetros e os machos entre 172 e 210 centímetros e podem atingir um peso máximo de cerca de 200 quilogramas (Culik, 2004; Perrin, 2009).

Esta espécie pode atingir uma longevidade máxima de cerca de 30 anos, as fêmeas atingem a maturidade sexual entre os 2 e 8 anos enquanto os machos atingem a maturidade sexual entre os 3 e os 12 anos (Perrin, 2009). O comprimento total dos indivíduos quando atingem a maturidade sexual é, em média, de 200 centímetros no caso dos machos e 190 centímetros no caso das fêmeas (Read, 2015).

¹ <http://ioniandolphinproject.org/species-guide/short-beaked-common-dolphin/> acedido a 9 de Fevereiro de 2017

As épocas de reprodução do Golfinho-comum ocorrem na primavera e no outono, no entanto, algumas populações apresentam também um pico de reprodução no verão (Jefferson *et al.*, 1993; Culik, 2004). Na costa portuguesa os picos de reprodução ocorrem essencialmente na primavera e no verão (Read, 2015). O período de gestação desta espécie varia entre os 10 e os 12 meses (Perrin & Reilly, 1984; Westgate & Read, 2007; Perrin, 2009; Pomeroy, 2011) e o período entre gestações pode variar entre 1 a 3 anos (Perrin, 2009).

As populações desta espécie distribuem-se amplamente em águas tropicais e temperadas, ocorrendo principalmente em zonas de elevada produtividade, nos oceanos Atlântico e Pacífico (Culik, 2004; Perrin, 2009). Em Portugal esta espécie é amplamente distribuída por toda a sua costa, mas essencialmente em zonas onde a profundidade não é muito elevada (Santos *et al.*, 2012; Read, 2015).

Numa visão geral e segundo a União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN), a espécie *Delphinus delphis* está listada como “pouco preocupante” (LC – *Least Concern*) (Hammond *et al.*, 2008a). No entanto, a população no Mar Negro (onde a subespécie *Delphinus delphis ponticus* foi provisoriamente proposta) encontra-se classificada como “vulnerável” (VU – *Vulnerable*) (Birkun, 2008). Por outro lado, a subpopulação do Mar Mediterrâneo, está presentemente listada como “em Perigo” (En – *Endangered*) (Bearzi, 2003).

No que concerne a arrojamentos em Portugal, embora ocorra alguma variação entre anos, foi já reportado que 65% dos arrojamentos do Norte e Centro de Portugal e 46% dos arrojamentos do Algarve correspondem a Golfinho-comum, sendo a captura acidental a sua principal causa de arrojamento (Ferreira *et al.*, 2012).

1.1.3.2 Golfinho-riscado, *Stenella coeruleoalba* (Meyen, 1833)



Figura 2 – Golfinho-riscado, *Stenella coeruleoalba*
(Fonte: Ionian dolphin project ²)

O Golfinho-riscado (Fig. 2), muitas vezes confundido com o Golfinho-comum, é uma das espécies facilmente encontrada na costa continental portuguesa (Brito *et al.*, 2009). Esta espécie apresenta um comprimento total médio, de cerca de 240 centímetros no caso dos machos e 220 centímetros no caso das fêmeas e um peso máximo de 156 quilogramas (Culik, 2004; Archer, 2009).

Foi estimada uma longevidade máxima de cerca de 57,5 anos tanto para os machos como para as fêmeas desta espécie, atingindo a maturidade sexual entre os 7 e os 15 anos e entre os 5 e os 13 anos, respetivamente (Archer, 2009).

As épocas de reprodução desta espécie ocorrem no verão e no inverno, após um período de gestação de cerca de 12 a 13 meses (Perrin & Reilly, 1984; Jefferson *et al.*, 1993; Archer, 2009; Pomeroy, 2011), e o período de amamentação é em média de 10 a 12 meses. Esta espécie reproduz-se a cada 3 ou 4 anos, apresentando cuidados parentais prolongados (Archer, 2009).

Em termos de distribuição esta espécie ocorre em todos os oceanos, em águas temperadas e tropicais, e ocorre tanto em zonas mais costeiras como em zonas oceânicas (Archer, 2009). Na costa continental portuguesa a ocorrência desta espécie é bastante ampla, sendo possível encontrá-la essencialmente em zonas mais profundas e afastadas da zona costeira (Santos *et al.*, 2012).

² <http://ioniandolphinproject.org/species-guide/striped-dolphin/> acedido a 9 de Fevereiro de 2017

Numa visão geral e segundo a IUCN, a espécie *Stenella coeruleoalba* está listada como “pouco preocupante” (LC – *Least Concern*) (Hammond *et al.*, 2008b). No entanto, a subpopulação do Mar Mediterrâneo encontra-se classificada como “vulnerável” (VU – *Vulnerable*) (Aguilar & Gaspari, 2012).

No que concerne a arrojamentos em Portugal, foi já reportado que o Golfinho-riscado representa 4% dos arrojamentos do Norte e Centro de Portugal e 12% dos arrojamentos do Algarve, sendo a captura accidental a sua principal ameaça e causa de arrojamento (Ferreira *et al.*, 2012).

1.1.3.3 Boto, *Phocoena phocoena* (Linnaeus, 1758)



Figura 3 – Boto, *Phocoena phocoena*
(Fonte: Ionian dolphin project ³)

O Boto (Fig. 3) é também uma das espécies que ocorre na costa continental portuguesa e é o mamífero mais pequeno da família dos cetáceos (p.e.: Brito *et al.*, 2009). As fêmeas desta espécie têm dimensões maiores que os machos, podendo atingir os 160 centímetros de comprimento total e o seu peso os 60 quilogramas, enquanto os machos, não ultrapassam normalmente os 145 centímetros de comprimento total e os 50 quilogramas de peso (Culik, 2004; Bjørge & Tolley, 2009). No entanto, os indivíduos das populações da Península Ibérica são geralmente de maiores dimensões, tendo sido já encontrados indivíduos com mais de 200 centímetros de comprimento total (Reid *et al.*, 2003; Fontaine *et al.*, 2014; Read, 2015).

³ <http://ioniandolphinproject.org/species-guide/harbour-porpoise/> acedido a 9 de Fevereiro de 2017

Apesar de terem sido encontrados alguns casos de indivíduos com cerca de 20 anos, a longevidade média desta espécie varia entre os 8 e os 10 anos. A maturidade sexual nesta espécie ocorre normalmente entre os 3 e os 4 anos, podendo, no entanto, ser atingida apenas aos 5 anos pelos machos ou aos 7 anos pelas fêmeas (Bjørge & Tolley, 2009). O comprimento total dos indivíduos quando atingem a maturidade sexual é, em média, 155 centímetros e 166 centímetros, para machos e fêmeas, respetivamente (Read, 2015).

A época de reprodução do Boto ocorre essencialmente entre a primavera e o verão, nomeadamente entre os meses de maio e agosto e o período de gestação é de cerca de 10 a 11 meses seguido de um período de amamentação de 8 a 12 meses (Perrin & Reilly, 1984; Jefferson *et al.*, 1993; Culik, 2004; Bjørge & Tolley, 2009). À exceção da população do Pacífico cujo tempo entre gestações é de cerca de 2 anos, esta espécie reproduz-se anualmente, passando grande parte da sua vida entre as fases de gestação e de amamentação. Isto significa que as fêmeas desta espécie poderão estar simultaneamente grávidas e ainda a amamentar os juvenis da reprodução anterior (Culik, 2004; Bjørge & Tolley, 2009).

O Boto possui uma distribuição mais restrita, ocorrendo em águas temperadas e subpolares, no Pacífico Norte e no Atlântico Norte e também no Mar Negro. As populações de cada um destes locais são reprodutivamente isoladas, dando origem às 3 subespécies conhecidas, no Atlântico, *Phocoena phocoena phocoena* (Abel, 1905), no Pacífico, *Phocoena phocoena vomerina* (Gill, 1865) e no Mar Negro, *Phocoena phocoena relicta* (Abel, 1905) (Culik, 2004; Bjørge & Tolley, 2009). Recentemente foi proposta uma nova subespécie para a população que ocorre na Galiza e em Portugal, *Phocoena phocoena meridionalis* (Fontaine *et al.*, 2014). Os autores sugerem que as populações do Atlântico são distintas entre si, apresentando diferenças genéticas (Fontaine *et al.*, 2007; 2010; 2014), hábitos alimentares e tamanho do corpo diferentes (Fontaine *et al.*, 2014). Na costa continental portuguesa esta espécie ocorre ao longo de toda a orla costeira, com densidades mais elevadas na zona Norte e Centro do País (Santos *et al.*, 2012; Read, 2015). É ainda de realçar o maior número de observações de Boto nos sectores do Porto até à Nazaré e de Sagres até Albufeira (Santos *et al.*, 2012).

Numa visão geral e segundo a IUCN, a espécie *Phocoena phocoena* está listada como “pouco preocupante” (LC – *Least Concern*) (Hammond *et al.*, 2008c). No entanto, a população no Mar Negro já reconhecida como subespécie, *Phocoena phocoena relicta*, encontra-se classificada como “em Perigo” (En – *Endangered*) (Birkun & Frantzis, 2008). No Mar Báltico, a subpopulação está listada como “criticamente em perigo” (CR – *Critically endangered*) (Hammond *et al.*, 2008d). Em Portugal, no livro vermelho dos vertebrados está classificada como “vulnerável” (Cabral *et al.*, 2006), sendo a espécie mais ameaçada dos pequenos cetáceos (Santos *et al.*, 2012).

No que concerne a arrojamentos em Portugal, foi já reportado que o Boto representa 13% dos arrojamentos do Norte e Centro de Portugal e 7% dos arrojamentos do Algarve, sendo a captura acidental a sua principal causa de arrojamento (Ferreira *et al.*, 2012).

1.1.3.4 Roaz, *Tursiops truncatus* (Montagu, 1821)



Figura 4 –Roaz, *Tursiops truncatus*
(Fonte: Ionian dolphin project ⁴)

O Roaz (Fig. 4) é uma das espécies abundantes da costa continental portuguesa, sendo uma das que mais se aproxima da costa em busca de alimento (Brito *et al.*, 2009). Esta espécie é bastante robusta, com um comprimento total que varia entre os 200 e os 380 centímetros e o seu peso pode variar entre os 220 e os 500 quilogramas. As suas características corporais estão relacionadas com as condições da água onde vive, sendo que o tamanho e o peso variam inversamente com a temperatura da água (Culik, 2004; Wells & Scott, 2009).

⁴ <http://ioniandolphinproject.org/species-guide/common-bottlenose-dolphin/> acedido a 9 de Fevereiro de 2017

As fêmeas podem atingir uma longevidade máxima de 57 anos e os machos de 48 anos, atingindo a maturidade sexual entre os 5 e os 13 anos e entre os 9 e os 14 anos, para fêmeas e machos, respetivamente. Quando atingem a maturidade sexual apresentam comprimentos totais de cerca de 300 centímetros no caso dos machos e 277 centímetros no caso das fêmeas (Read, 2015). Esta espécie possui um período reprodutivo bastante extenso, sendo possível encontrar fêmeas gestantes com mais de 48 anos (Wells & Scott, 2009).

As épocas de reprodução do Roaz ocorrem na primavera e no verão, no entanto algumas populações apresentam um segundo pico mais tardio, que ocorre apenas no outono (Perrin & Reilly, 1984; Jefferson *et al.*, 1993; Wells & Scott, 2009; Pomeroy, 2011). O período de gestação é de 12 meses, seguido de um período de amamentação mínimo de 1 ano e, contrariamente às espécies anteriormente descritas, o tempo entre gestações pode variar entre 3 a 6 anos, uma vez que os cuidados parentais são bastante prolongados (Wells & Scott, 2009).

O Roaz é uma das espécies mais cosmopolitas dos pequenos cetáceos, tendo uma distribuição bastante ampla por toda a faixa tropical e temperada (Culik, 2004; Perrin, 2009). Em Portugal esta espécie distribui-se ao longo de toda a costa, maioritariamente em zonas bastante produtivas da plataforma continental (Santos *et al.*, 2012; Read, 2015).

Numa visão geral e segundo a IUCN, a espécie *Tursiops truncatus* está listada como “pouco preocupante” (LC – *Least Concern*) (Hammond *et al.*, 2012). No entanto, no Mar Negro ocorre a subespécie *Tursiops truncatus ponticus*, a qual está classificada como “em Perigo” (En – *Endangered*) (Birkun, 2012). No Mar Mediterrâneo, a subpopulação de Roaz apresenta-se “vulnerável” (VU – *Vulnerable*) (Bearzi *et al.*, 2012) enquanto a população da Nova Zelândia se encontra classificado como “criticamente em perigo” (CR – *Critically endangered*) (Currey *et al.*, 2011).

No que concerne a arrojamentos em Portugal, foi já reportado que o Roaz representa 2% dos arrojamentos do Norte e Centro de Portugal e 5% dos arrojamentos do Algarve, sendo a captura acidental a sua principal ameaça e causa de arrojamento (Ferreira *et al.*, 2012).

1.1.4 Principais ameaças aos pequenos cetáceos

A pressão sobre os ambientes marinhos tem vindo a aumentar devido à intensificação das atividades antropogénicas em ecossistemas marinhos. Estas atividades têm levado a alterações significativas na abundância de espécies marinhas, tendo um maior impacto nos predadores de topo (Hutchings & Baum, 2005).

As populações de pequenos cetáceos enfrentam diversas ameaças de carácter antropogénico. Destacam-se a captura accidental nas pescas, destruição de *habitats*, poluição, alterações ao nível da abundância das suas presas, perturbação associada a pescas, turismo e alterações climáticas (Simmonds & Isaac, 2007; Read, 2015).

As alterações climáticas afetam a distribuição de cetáceos como consequência de variações na distribuição das suas presas (Simmonds & Isaac, 2007). Estas variações podem influenciar a capacidade de obtenção de alimento, de aquisição de energia e até ameaçar a sobrevivência dos pequenos cetáceos (MacLeod *et al.*, 2007; Fontaine *et al.*, 2010).

No que diz respeito à poluição, os predadores de topo são expostos a contaminantes, quase exclusivamente, por ingestão de organismos contaminados ou em situações de amamentação por transferência da mãe para cria, através do leite ou durante a gestação (Lockyer, 2003; Pierce *et al.*, 2008). As consequências da contaminação e bioacumulação por elementos e compostos tóxicos em mamíferos marinhos incluem: depressão do sistema imunitário; aumento do risco de infeção; e falha no sistema reprodutivo (Helle *et al.*, 1976; Hall *et al.*, 2006; Pierce *et al.*, 2008).

Uma vez que, quer cetáceos quer pescadores, exploram o mesmo recurso, os conflitos relacionados com a atividade pesqueira constituem uma das principais ameaças a este grupo (Read, 2015). A captura accidental é apontada como a principal causa de arrojamentos em Portugal, tendo sido possível verificar que 58% dos animais arrojados apresentavam indícios de captura accidental por artes de pesca (Ferreira *et al.*, 2012).

Atualmente, considerando o impacto das atividades humanas nos mamíferos marinhos, a Diretiva *Habitats* (92/43/CEE) atribuiu um estatuto de proteção a todas as espécies de cetáceos. No âmbito da mesma Diretiva os Estados-Membros assumiram o compromisso de identificar áreas de conservação para o Roaz e para o Boto e a definir os respetivos planos de gestão.

1.2 Ciclo reprodutivo dos pequenos cetáceos

O ciclo reprodutivo, definido como o tempo necessário para que uma espécie se reproduza, é constituído por várias etapas, todas elas reguladas pelo sistema endócrino. Nos pequenos cetáceos as principais etapas associadas ao ciclo reprodutivo são: a maturação dos oócitos, ovulação, fecundação, gestação, nascimento, amamentação e período de repouso (Fukui, 2007; Chivers, 2009; Pomeroy, 2011). Todas estas etapas variam de espécie para espécie e são afetadas pelas condições ambientais, sociais e nutricionais em que a população está inserida, o que por sua vez influencia a duração do ciclo reprodutivo (Pomeroy, 2011).

De um modo geral e à exceção do Boto, que pode produzir descendência anualmente, a maioria das espécies de pequenos cetáceos tem um ciclo reprodutivo com uma duração mínima de 2 anos (Chivers, 2009). Todas as espécies de pequenos cetáceos geram apenas uma cria por gestação e garantem-lhe intensos cuidados parentais. Apenas após o juvenil estar apto a sobreviver por si só é que ocorre nova reprodução (Chivers, 2009; Mann, 2009).

1.2.1 Ciclo do ovário

A primeira fase do ciclo reprodutivo, a maturação dos oócitos, ocorre nos ovários e pode ser descrita como um ciclo específico, conhecido como o ciclo do ovário (Fig. 5). Os ovários são constituídos por diversas células, essencialmente os folículos, que contêm no seu interior os oócitos imaturos. A foliculogénese, tal como o nome indica, é a etapa que consiste na formação e desenvolvimento dos folículos e que, a par com a oogénese, que consiste no desenvolvimento e maturação do oócito, precede a ovulação (Perrin & Donovan, 1984; Fukui, 2007).

Durante as diferentes etapas do ciclo do ovário, um dos folículos e o oócito que se encontra no seu interior, desenvolvem-se, aumentando de tamanho e adquirindo as características necessárias para que ocorra a ovulação. O folículo passa por diversas fases graduais de desenvolvimento, desde folículo primário a folículo de Graaf, contendo este último o oócito secundário que está pronto a ser libertado. À medida que a ovulação se

aproxima e com o aumento de tamanho do folículo e do oócito, estes migram lentamente para a superfície e, aquando da ovulação, rompem a parede do ovário e a do folículo libertando o oócito maduro pronto a ser fecundado (Perrin & Donovan, 1984; Fukui, 2007).

Após a ovulação, o folículo sofre uma forte irrigação sanguínea e continua o seu desenvolvimento, as células foliculares transformam-se em células luteinizadas, ganhando uma cor amarela, aumentando de tamanho e criando uma proeminência no ovário, denominada por Corpo Lúteo (CL). Caso não ocorra fecundação o desenvolvimento do CL é interrompido iniciando-se a fase de degeneração. Na ocorrência de fecundação o CL desenvolve-se fortemente durante o início da gravidez, criando um corpo de elevadas dimensões e a fase de degeneração inicia-se apenas aquando do desenvolvimento completo do CL. Durante a fase de degeneração o CL vai regredindo em termos de tamanho, perdendo a sua tonalidade amarela e formando uma cicatriz na superfície do ovário que se denomina por Corpo Albicans (CA). Esta fase do ciclo está associada ao período de amamentação e finaliza o ciclo do ovário. Após um período de repouso, de duração variável, é então iniciada novamente a maturação de um novo oócito. No caso da não ocorrência de fecundação este ciclo é mais curto, no entanto, ocorre também um período de repouso, só se verificando nova ovulação no ano seguinte (Ivashin, 1984; Perrin & Donovan, 1984; Perrin & Reilly, 1984; Fukui, 2007; Pomeroy, 2011; Read, 2015). O Roaz é uma exceção tendo sido observada mais do que uma ovulação anual, em casos onde não ocorreu fecundação do oócito (Fukui, 2007).

Ao longo da vida do indivíduo, os CA formados, cujo tamanho inicial depende do tamanho do CL que o precedeu, vão regredindo e sendo incorporados pelo ovário, diminuindo de tamanho e ficando com uma aparência cada vez menos notória (Ivashin, 1984; Perrin & Donovan, 1984; Perrin & Reilly, 1984; Fukui, 2007; Pomeroy, 2011; Read, 2015). A persistência destas cicatrizes e a sua importância para estudos sobre reprodução de pequenos cetáceos tem sido um assunto bastante debatido pela comunidade científica. Presentemente, assume-se que os CA de gestação, devido ao seu maior tamanho e aos compostos que os constituem, tendem a regredir de forma mais lenta, nunca chegando a ser totalmente incorporados e mantendo-se permanentemente visíveis no ovário, enquanto os CA de ovulação tendem a regredir a maior velocidade e a ser completamente

incorporados pelo ovário (Ivashin, 1984; Perrin & Donovan, 1984; Perrin & Reilly, 1984; Takahashi *et al.*, 2006; Fukui, 2007; Dabin *et al.*, 2008).

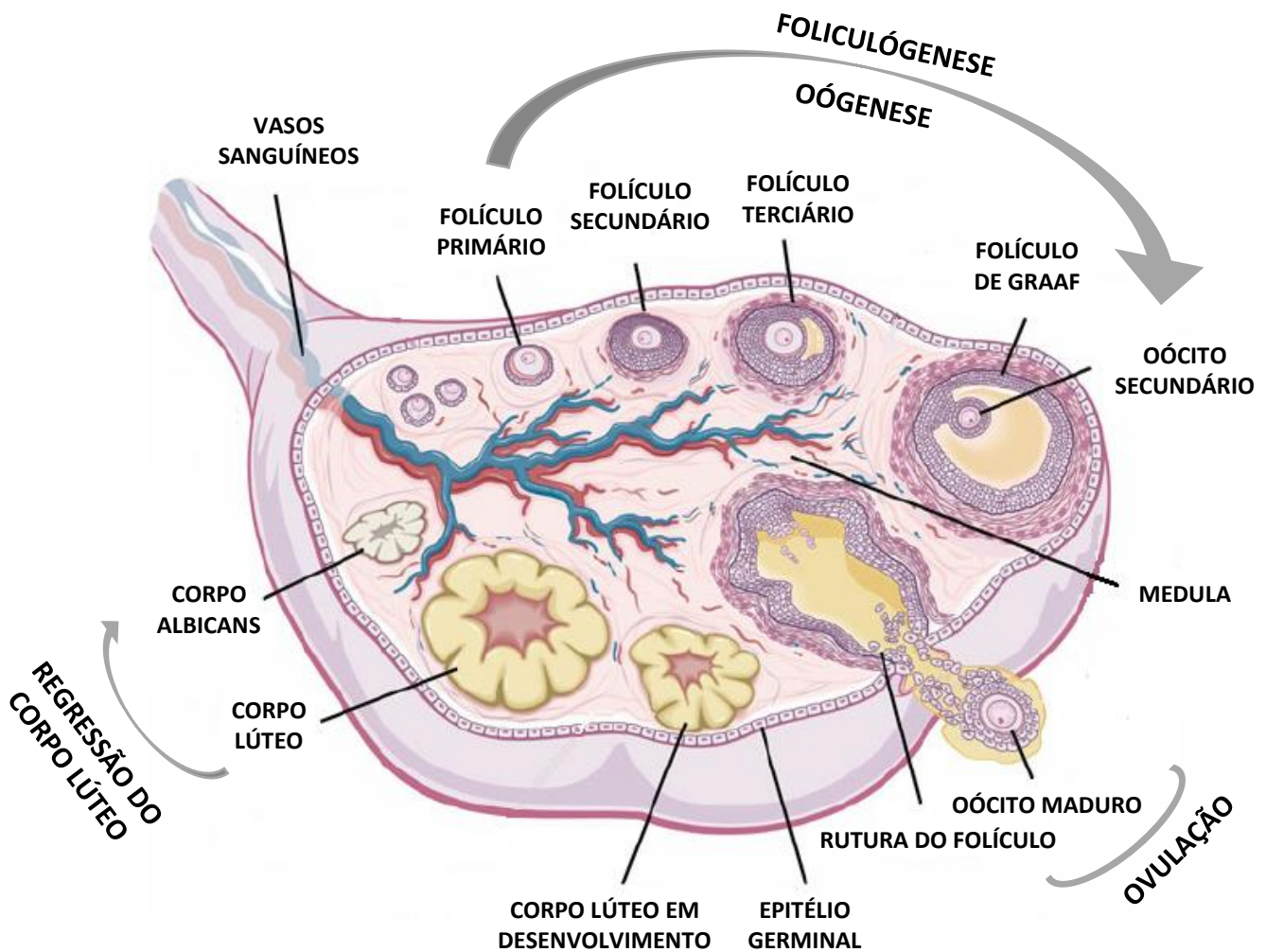


Figura 5 – Ciclo do ovário (Adaptado de Desai *et al.*, 2014)

1.3 Morfologia das gónadas e sua utilização para estudos de reprodução

Devido à dificuldade associada ao estudo dos pequenos cetáceos no seu *habitat* natural, a forma mais eficaz para estudar a sua reprodução centra-se principalmente na observação e análise das gónadas de animais arrojados já mortos (Bryden *et al.*, 1984). Através do estudo das gónadas é possível determinar a maturidade sexual dos indivíduos, estimar a idade dos mesmos, inferir o número de gestações ocorridas, estimar taxas de

gestação e ovulação e extrair informações essenciais para o estudo da dinâmica populacional dos pequenos cetáceos (Bryden *et al.*, 1984; Perrin & Donovan, 1984; Perrin & Reilly, 1984; George *et al.*, 2011; Pomeroy, 2011; Tsuji, 2013).

As informações extraídas das gónadas são de extrema importância, constituindo uma ferramenta essencial para o estudo do estado reprodutivo dos pequenos cetáceos. Todos os dados e informações recolhidos permitem uma maior compreensão das populações em estudo, da sua dinâmica, da sua capacidade de renovação e manutenção sendo fundamental para a criação e adaptação das medidas de conservação e mitigação implementadas (Bryden *et al.*, 1984; Perrin & Reilly, 1984; George *et al.*, 2011; Pomeroy, 2011; Tsuji, 2013; Read, 2015; Manlik *et al.*, 2016).

Contrariamente à maioria dos mamíferos, os testículos dos pequenos cetáceos encontram-se no interior da cavidade abdominal contribuindo para a eficiência do hidrodinamismo dos indivíduos (Atkinson, 2009). São órgãos longos e cilíndricos, cuja superfície é lisa e de cor clara e morfologicamente semelhantes entre diferentes espécies. O tamanho dos testículos dos pequenos cetáceos é superior ao esperado tendo em conta o seu tamanho corporal e tende a variar com a idade, maturação e atividade sexual dos mesmos (Plön & Bernard, 2007; Atkinson, 2009). Interiormente, os testículos são constituídos por imensos túbulos seminíferos onde se encontra o esperma, e cujo diâmetro e comprimento varia também de acordo com a idade, maturidade e atividade sexual do indivíduo. Quer o testículo esquerdo quer o direito são bastante semelhantes e tendem a tornar-se maduros ao mesmo tempo (Plön & Bernard, 2007).

Nos pequenos cetáceos, os ovários alteram a sua aparência ao longo dos anos e de acordo com o estado de maturação das fêmeas. Inicialmente são caracterizados por uma superfície externa lisa e têm a forma de um feijão, ligeiramente espalmado (Fig. 6). O seu interior é também liso, podendo apenas denotar-se a presença de algumas células esféricas, os folículos (Fig. 7). Ao longo do tempo aumentam de tamanho e adquirem cicatrizes de cor branca ou amarela, os CAs, visíveis, externa e internamente, tornando-se mais enrugados e menos espalmados (Fig. 8, 9). Podem ainda apresentar proeminências esféricas amareladas e bastante vascularizadas, os CLs (Fig. 10) (Fukui, 2007).

Apesar do ovário esquerdo e do direito serem semelhantes e possuírem as mesmas características, na maioria das espécies o ovário esquerdo torna-se ativo primeiro e apresenta maior atividade ovulatória, sendo que o direito só inicia a sua atividade após um certo número de ovulações ou após o esquerdo se tornar disfuncional (Fig. 11) (Perrin & Donovan, 1984; Fukui, 2007; Stewart & Stewart, 2009; Pomeroy, 2011).

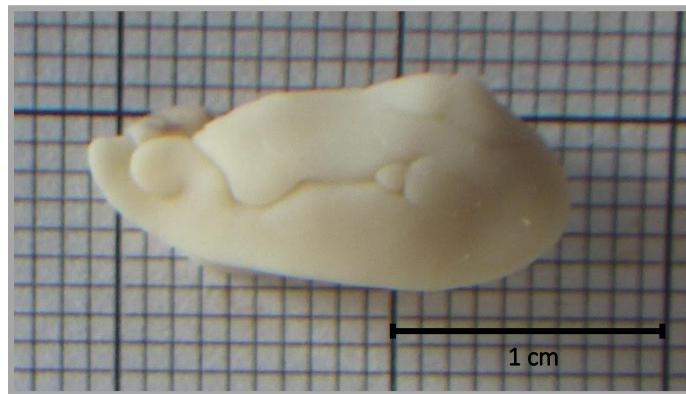


Figura 6 – Ovário esquerdo de um Golfinho-comum imaturo.



Figura 7 – Interior de ovário esquerdo de um Golfinho-comum imaturo.

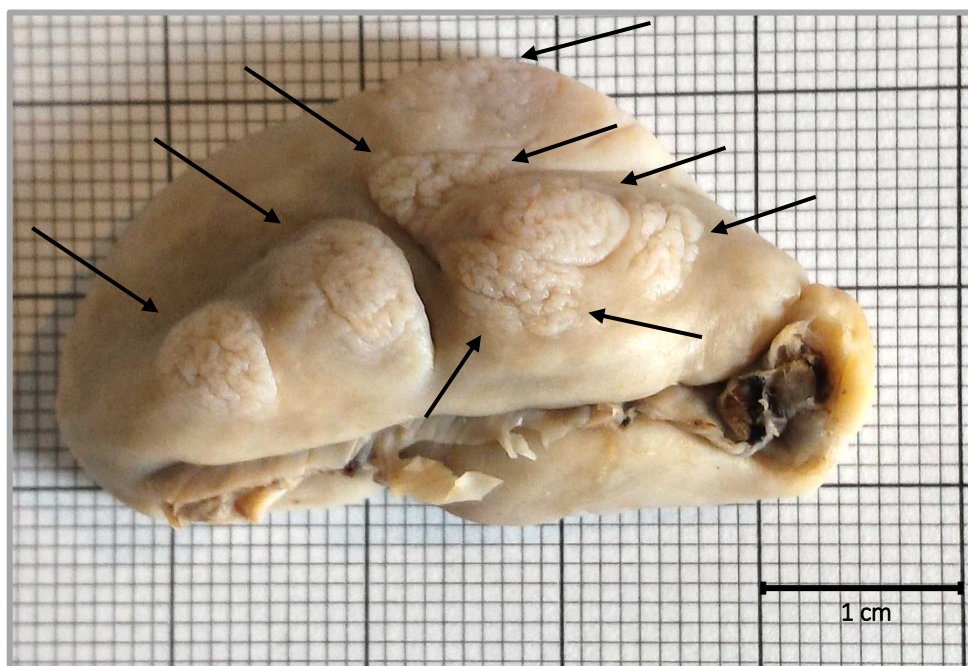


Figura 8 – Ovario esquerdo de um Golfinho-comum maturo. As setas mostram os CAs.

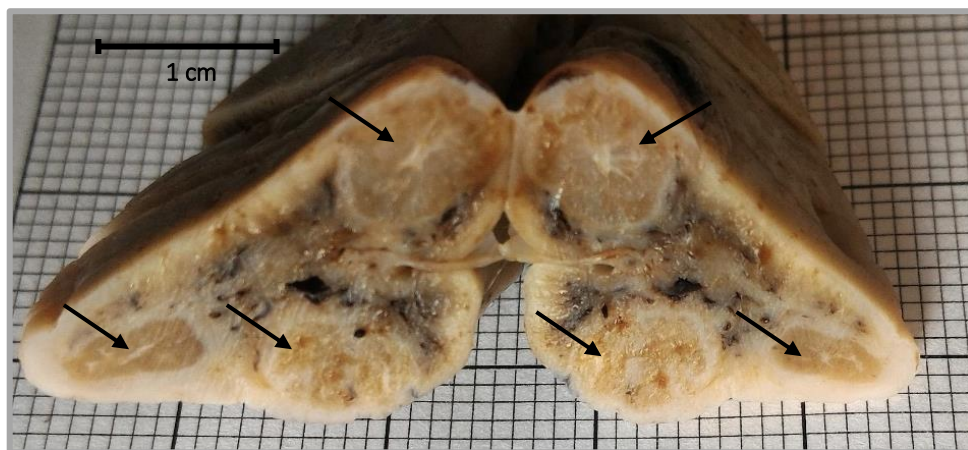


Figura 9 – Interior de ovario esquerdo de um Golfinho-comum maturo. As setas mostram os CAs.

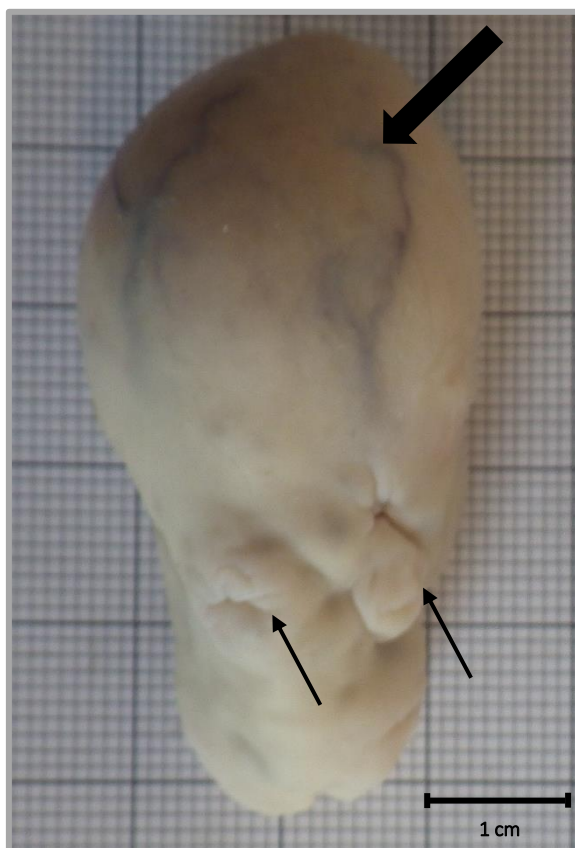


Figura 10 – Ovario esquerdo de um Golfinho-comum maduro. As setas finas mostram os CAs e a seta grossa mostra o CL.



Figura 11 – Ovario esquerdo e direito de um Golfinho-comum maduro. As setas mostram os CAs apenas presentes no ovario esquerdo.

1.3.1 Utilização das gónadas para estudos de reprodução e conservação

O estado de maturidade de um indivíduo é um dos principais parâmetros a analisar em estudos de reprodução e de dinâmica de populações de pequenos cetáceos (Chivers, 2009). De facto, a monitorização dos parâmetros da história de vida é cada vez mais reconhecida como um meio para fornecer informações importantes para a deteção de padrões e tendências ao longo do tempo no sucesso reprodutivo, proporção de sexos, idade de maturidade sexual, taxa de gravidez e mortalidade natural e antropogénica. Estes dados são necessários para avaliar alterações na dinâmica das populações decorrentes das várias pressões a que estão sujeitas, portanto, são valiosas para uma gestão e conservação eficazes (Rosas, 2000; Read, 2015).

No que diz respeito aos testículos, a sua análise centra-se essencialmente na determinação do estado de maturidade e atividade sexual dos indivíduos não sendo rentável extrair mais informações dos mesmos. No entanto, informações referentes à reprodução dos machos são também bastante importantes para estudos de reprodução e conservação de pequenos cetáceos (Murphy *et al.*, 2005; Chivers, 2009). A forma mais eficaz de perceber a maturidade sexual do indivíduo em estudo é a análise dos testículos, nomeadamente, o seu tamanho, largura dos túbulos seminíferos e deteção de espermatozoides nos mesmos. Animais imaturos possuem testículos de reduzidas dimensões, túbulos seminíferos bastante estreitos e rodeados por tecido intersticial, sem vestígios de espermatozoides no seu interior quando analisados histologicamente. Animais maduros, pelo contrário, apresentam testículos de maiores dimensões contendo túbulos seminíferos mais largos, com lúmen e, no seu interior, espermatozoides (Perrin & Reilly, 1984; Murphy *et al.*, 2005; Plön & Bernard, 2007; Atkinson, 2009; Chivers, 2009).

Em relação às fêmeas, é também a análise dos ovários a forma mais eficaz para a determinação do estado de maturidade dos indivíduos. A presença de pelo menos uma cicatriz, CA, quer na superfície quer no interior ou de uma estrutura proeminente de cor amarela, CL, indica a maturidade da fêmea, ou seja, que esta já é madura. Um indivíduo é então imaturo se não apresentar nenhuma cicatriz em nenhum dos ovários (Fig. 12a) e maduro se apresentar em pelo menos um ovário, pelo menos uma cicatriz (Fig. 12a) (Perrin & Donovan, 1984; Fukui, 2007; Chivers, 2009; Stewart & Stewart, 2009; Pomeroy, 2011).

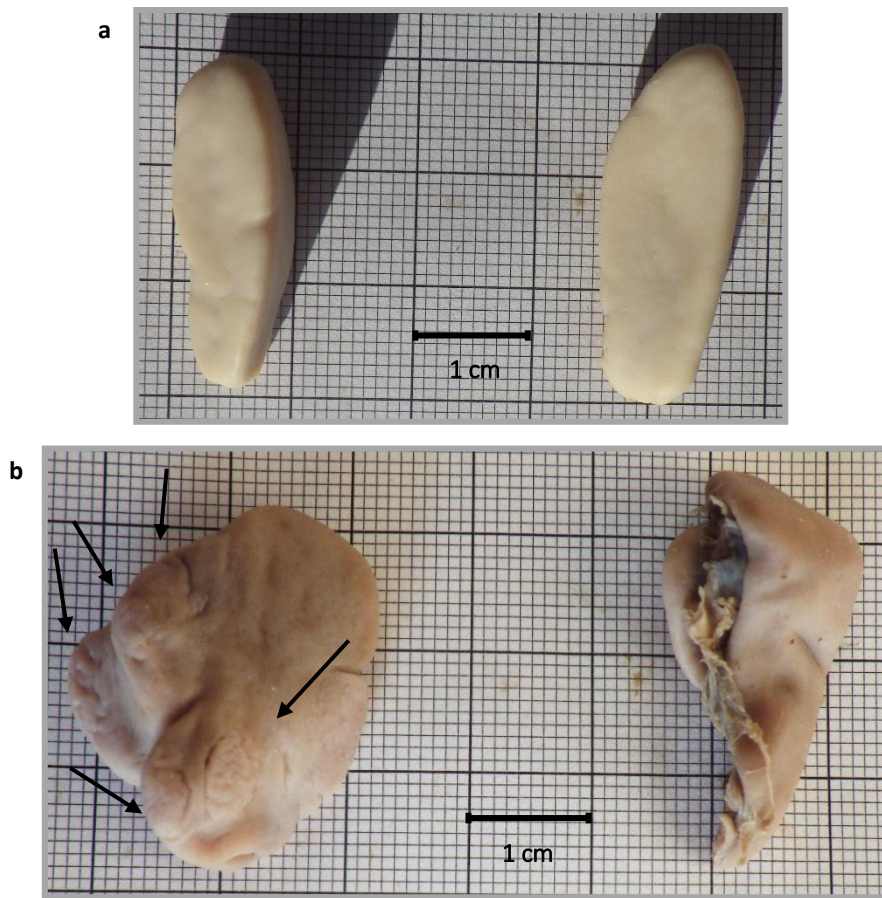


Figura 12 – Ovário esquerdo e direito de um Golfinho-comum imaturo (a) e ovário esquerdo e direito de um Golfinho-comum maduro (b). As setas mostram os CAs apenas presentes no ovário esquerdo.

A análise dos ovários dos pequenos cetáceos, contrariamente ao que se passa com os testículos, permite-nos obter diversas informações além do estado de maturidade dos indivíduos. Esta é uma temática bastante discutida entre a comunidade científica e que gera ainda algum desacordo. No entanto, estudos recentes demonstram que através da contagem de CAs é possível inferir o número de gestações ocorridas, e não de ovulações, como anteriormente se pensava, e dessa forma estimar a idade aproximada do indivíduo (George *et al.*, 2011; Pomeroy, 2011; Tsuji, 2013; Read, 2015). Estudos morfológicos, a nível macro e microscópico, dos ovários de uma determinada população de indivíduos vão assim permitir estudar o estado reprodutor das fêmeas dessa população, sendo a sua interpretação importante para perceber a estrutura e dinâmica dessa população (Bryden *et al.*, 1984; Perrin e Donovan, 1984; Perrin e Reilly, 1984; George *et al.*, 2011; Pomeroy, 2011; Tsuji, 2013).

1.4 Objetivos da tese

O principal objetivo do presente trabalho é caraterizar o estado reprodutor das fêmeas de algumas espécies de pequenos cetáceos, nomeadamente das espécies mais frequentes na costa continental portuguesa: Golfinho-comum; Golfinho-riscado; Boto e Roaz.

No futuro, esta informação contribuirá para estudos mais amplos que permitirão conhecer quais as secções de cada população (juvenis ou adultos; machos ou fêmeas; maturos ou imaturos) que serão mais afetadas pelas várias ameaças e compreender a evolução das abundâncias das espécies estudadas.

De forma a atingir o objetivo principal, foram definidos os seguintes objetivos específicos:

- Recolher e preparar um número representativo de ovários de indivíduos arrojados na zona de estudo;
- Contabilizar em cada ovário o número de CL e CA, ou a sua ausência;
- Caraterizar a estrutura do ovário das fêmeas analisadas;
- Diferenciar a proporção de fêmeas maduras e não maduras analisadas;
- Definir o comprimento total a partir do qual a fêmea das espécies analisadas deverá atingir a maturidade.

1.5 Estrutura da tese

O presente capítulo constitui um enquadramento teórico à dissertação. A metodologia utilizada para atingir os objetivos propostos está descrita no capítulo 2 e os resultados produzidos apresentam-se no capítulo 3. Por sua vez, o capítulo 4 consiste na discussão dos resultados obtidos e por fim o capítulo 5 inclui uma síntese do trabalho efetuado, onde se destacam as principais conclusões e se apontam algumas linhas de trabalho futuro a desenvolver. O capítulo 6 reúne as referências bibliográficas utilizadas para a realização do presente estudo.

CAPÍTULO 2

METODOLOGIA

2.1 Área de estudo

O presente estudo abrangeu a orla costeira de Portugal Continental, incluindo cetáceos arrojados na área de atuação das redes regionais de arrojamentos de animais marinhos da zona centro e norte de Portugal (entre Caminha e Peniche) e da zona sul de Portugal (entre Odeceixe e Vila Real de Santo António) (Fig. 13). As redes são coordenadas regionalmente pela Sociedade Portuguesa de Vida Selvagem (SPVS) e a nível nacional pelo Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas (ICNF). Este trabalho foi desenvolvido no âmbito do projeto *LIFE+ MarPro* (NAT/PT/00038), um projeto cofinanciado pela Comissão Europeia e coordenado pela Universidade de Aveiro.



Figura 13 – Mapa de Portugal com destaque das cidades Caminha, Peniche, Odeceixe e Vila Real de Santo António, que delimitam as zonas de atuação das redes regionais de arrojamentos (Adaptado de NASA Shuttle Radar Topography Mission⁵).

⁵ <https://www2.jpl.nasa.gov/srtm/> acedido a 22 de Julho de 2017

Portugal Continental possui uma zona costeira dominada por costas rochosas e extensas praias arenosas (Read, 2015) e uma plataforma continental estreita mas relativamente profunda (Pereira, 1991). Durante a Primavera, alterações nas correntes marítimas e nos ventos dominantes levam à ocorrência de afloramento costeiro, ainda pouco notório (Cordeiro, 2009). No entanto, ao longo dos meses de Verão, devido à forte estratificação das águas, à dominância de ventos de Norte e de correntes de Sul este intensifica-se fortemente (Álvarez-Salgado *et al.*, 2003; Cordeiro, 2009). A ocorrência de afloramento costeiro provoca o arrefecimento das águas superficiais e o seu enriquecimento em nutrientes e sais (Âmbar, 2002) e estas condições promovem a produtividade primária (Cury & Roy 1989; Arístegui *et al.*, 2009) e consequentemente levam a uma maior densidade de peixes, moluscos e outros recursos biológicos (Fiuza 1982; Arístegui *et al.*, 2009). A esta abundância de recursos está associada uma forte exploração tanto por parte do sector das pescas, como por parte dos mamíferos marinhos, nomeadamente os pequenos cetáceos (Sequeira & Ferreira, 1994).

2.2 Espécies em estudo

As espécies de pequenos cetáceos escolhidas para o desenvolvimento do presente estudo foram o Golfinho-comum, o Roaz, o Golfinho-riscado e o Boto (ver descrição das espécies na secção 1.1.3). Considerando os pequenos cetáceos, as espécies seleccionadas são as que ocorrem com maior abundância (Santos *et al.* 2012) e as que apresentam maiores taxas de arrojamento na costa continental portuguesa (Ferreira *et al.*, 2012).

2.3 Análise morfológica dos ovários

Para a realização deste estudo foram utilizados ovários de cetáceos arrojados mortos. Os organismos foram recolhidos das praias ou das embarcações onde ocorreu a captura accidental e transportados para a estação de campo de Quiaios, onde foi realizada a necrópsia. As amostras e informações recolhidas seguiram o protocolo de necrópsia já estabelecido pela Sociedade Europeia de Cetáceos (ECS) (Kuiken & Hartmann, 1991). Entre

outros dados, foram registadas as respetivas biometrias, peso (quando possível) e toda a informação que evidenciasse possíveis causas de morte e estado reprodutor. Os ovários foram separados do restante sistema reprodutor e conservados numa solução de formol a 10% tamponizado, para análise posterior.

Após serem retirados da solução de formol, extraiu-se todo o material excedente que não pertencia à gonada e cada ovário foi seco e fotografado em papel milimétrico para registo. De seguida, cada ovário foi pesado (0,01 g) e foram registadas 3 medidas: comprimento (C), largura (L) e altura (H) (mm) (Fig. 14).

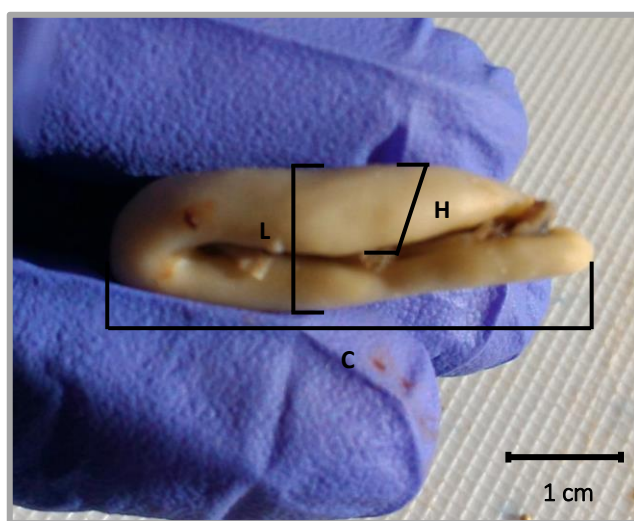


Figura 14 – Medidas feitas aos ovários. C – comprimento; L – largura e H – altura (mm)

Os ovários foram examinados externamente para contagem de CL e CAs. Com o auxílio de uma lâmina foram feitos cortes finos de cerca de 1-2 mm, ao longo do ligamento à trompa, de forma a examinar internamente a presença de CA e de folículos não visíveis no exame externo. Foi registada a presença ou ausência de folículos e o número total de CL e de CA. Além disso, para cada CL foram medidos o comprimento, a altura e a largura e para cada CA foi medido o maior diâmetro. As fêmeas foram consideradas sexualmente maduras quando os ovários continham, pelo menos, um CL ou um CA e sexualmente imaturas se não fosse identificado nenhum corpo.

2.4 Análise estatística dos dados

Inicialmente os dados foram reunidos e compilados e foi realizada a análise descritiva das variáveis em estudo, nomeadamente: número de indivíduos analisados de cada espécie; número de indivíduos maduros e imaturos de cada espécie; número de indivíduos de cada espécie analisados consoante o ano de arrojamento; comprimento total dos organismos; peso, largura, altura e comprimento dos ovários; número de cicatrizes presentes nos ovários e diâmetro dos CA presentes nos ovários. Para as variáveis: comprimento total dos organismos; peso, largura, altura e comprimento dos ovários; número de cicatrizes presentes nos ovários e diâmetro dos CA presentes nos ovários foram calculados, para cada espécie, os valores médios, desvio padrão e o valor mínimo e máximo. Foi também analisada a variação do comprimento total médio das fêmeas arrojadas ao longo dos diferentes anos de estudo e foi calculada a proporção de fêmeas maduras que apresentavam corpos nos ovários.

As fêmeas foram consideradas sexualmente maduras quando os ovários continham, pelo menos, um CL ou um CA. De forma a testar a relação entre a maturidade (indivíduos maduros ou imaturos, variável dependente) e o tamanho do animal (variável independente) foi realizada uma regressão logística com uma distribuição binomial (link logit), devido à origem binária da variável dependente. Foram produzidos gráficos de frequências cumulativas das fêmeas permitindo estimativas do comprimento total em que 50% dos indivíduos são maduros.

Foram também realizadas regressões lineares de forma a investigar a relação entre o comprimento total das fêmeas e o comprimento/peso das respetivas gónadas analisadas. Para a análise do comprimento foram analisadas as duas gónadas individualmente, enquanto para o peso foi usada uma combinação do peso das duas gónadas. Os pressupostos da regressão linear (normalidade, homogeneidade e independência) foram testados nos resíduos dos modelos. Quando os pressupostos não eram cumpridos, aplicou-se uma transformação logarítmica (\log_{10}) à variável dependente (comprimento ou peso das gónadas).

Por fim, foram realizadas regressões de Poisson para testar a potencial relação entre o número de corpos dos ovários (combinação de CAs e CLs, variável dependente) e o tamanho do animal (variável independente). Sempre que as regressões evidenciavam sobredispersão dos dados, a distribuição de Poisson foi substituída pela distribuição Binomial Negativa. Foi verificado se existiam evidências de pontos altamente influenciáveis ou falta de independência nos resíduos do modelo.

As análises estatísticas foram realizadas no *software* R 3.1.2 (R development team, 2014).

CAPÍTULO 3

RESULTADOS

Para a realização deste estudo foram analisadas um total de 388 fêmeas, arrojadas em Portugal Continental entre 2002 e 2016. O Golfinho-comum foi a espécie com o maior número de fêmeas analisadas, 272 (70%), seguido do Boto, 77 (20%), do Golfinho-riscado, 31 (8%) e do Roaz, 8 (2%) (Fig. 15).

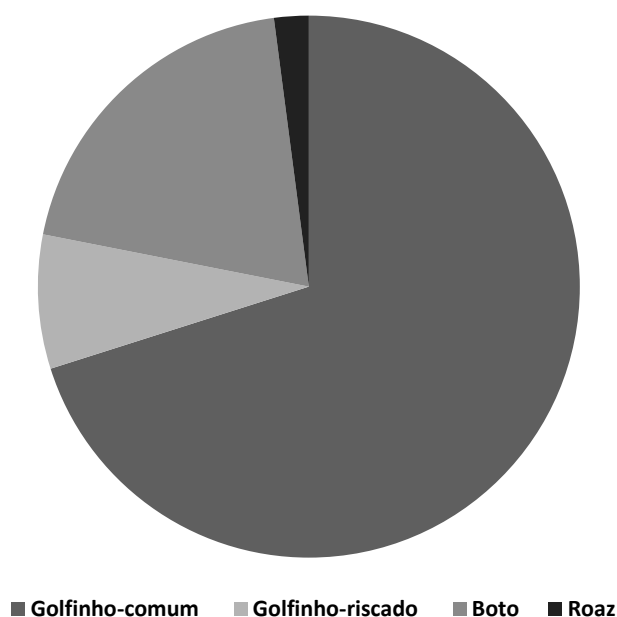


Figura 15 – Número de fêmeas das espécies analisadas, arrojadas entre 2002 e 2016

Ao longo dos diferentes anos de estudo, o número de arrojamentos foi bastante variável, influenciando o número de fêmeas analisadas referentes a cada ano (Fig. 16). Os anos de 2011, 2012 e 2014 foram os anos de arrojamento do maior número de fêmeas analisadas.

A captura acidental por artes de pesca foi a causa de morte mais provável das fêmeas arrojadas (70%), seguido de arrojamento vivo, trauma ou doença (15%). Nos restantes 15% dos arrojamentos não foi possível determinar a causa de morte.

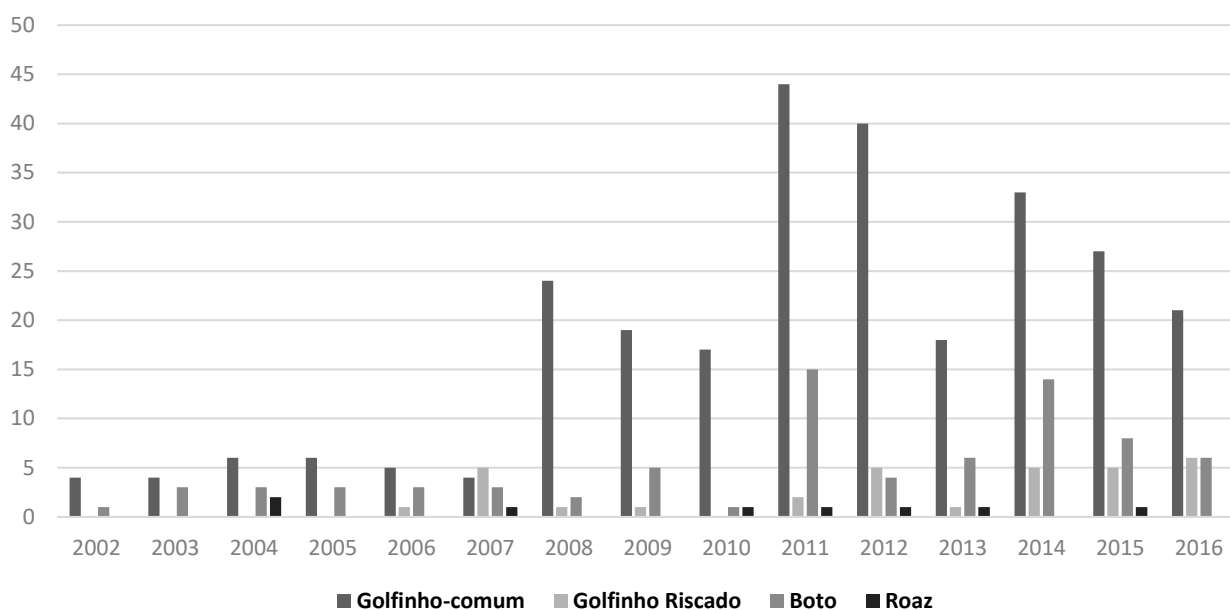


Figura 16 – Número de fêmeas analisadas de acordo com o ano de arrojamento.

A análise dos ovários permitiu perceber a maturidade das fêmeas analisadas, sendo que, no total 67% eram imaturas. A figura 17 mostra o número de fêmeas imaturas e maduras de cada espécie analisada, sendo que as fêmeas imaturas constituíam 65% das fêmeas de Golfinho-comum, 71% das fêmeas de Golfinho-riscado, 75% das fêmeas de Boto e 38% das fêmeas de Roaz.

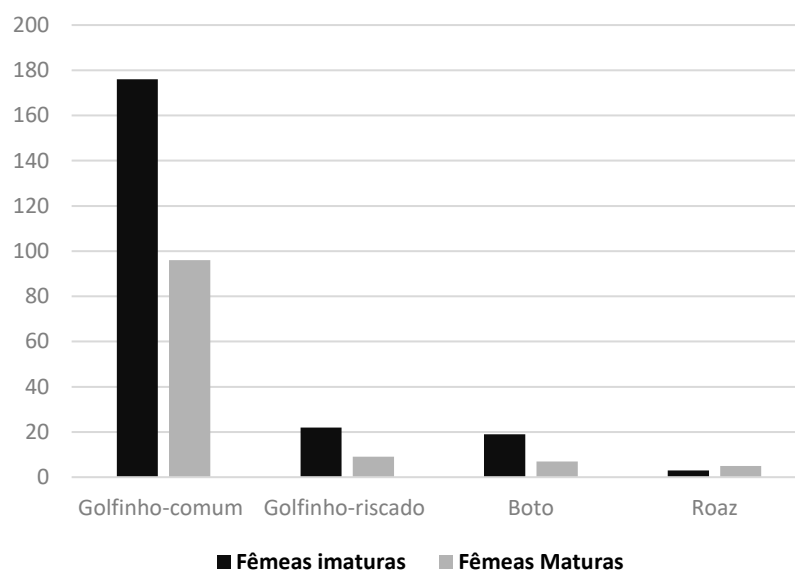


Figura 17 – Número de fêmeas maduras e imaturas analisadas das quatro espécies em estudo

A tabela I resume os valores referentes ao comprimento total das fêmeas analisadas, das diferentes espécies em estudo.

Tabela I – Comprimento total (cm) das fêmeas imaturas, maduras e total das espécies analisadas. DP, Desvio padrão; min-max, valores mínimos e máximos.

		Golfinho-comum	Golfinho-riscado	Boto	Roaz
		Média ± DP (min-max)	Média ± DP (min-max)	Média ± DP (min-max)	Média ± DP (min-max)
Comprimento total (cm)	Imaturos	165,8 ± 21,2 (114-240)	165,68 ± 22,66 (114-199)	138,89 ± 22,21 (84,5-172)	223 ± 31,11 (201-267)
	Maduros	201,7 ± 10 (173-225)	205,5 ± 13,5 (175-226)	181,37 ± 13,22 (159-219)	292,2 ± 16,9 (262-314)
	Total	178,5 ± 24,9 (114-240)	177,24 ± 27,28 (114-226)	149,37 ± 27,39 (84,5-219)	266,25 ± 40,79 (201-314)

No que diz respeito ao Golfinho-comum, o seu comprimento total variou entre os 114cm e os 240cm e foi possível verificar através de uma regressão logística que o estado de maturidade dos indivíduos (maturo ou imaturo) variou significativamente consoante o tamanho dos indivíduos ($Z_{272} = 7,9$, $P = 2,82 \times 10^{-15}$), com maior probabilidade de animais maiores pertencerem à categoria dos maduros. O gráfico de frequência cumulativa (Fig. 18) da proporção de fêmeas maduras de Golfinho-comum em relação ao seu comprimento total, indica que o comprimento total estimado em que 50% das fêmeas são sexualmente maduras é de 192,27cm (SE = 1,30).

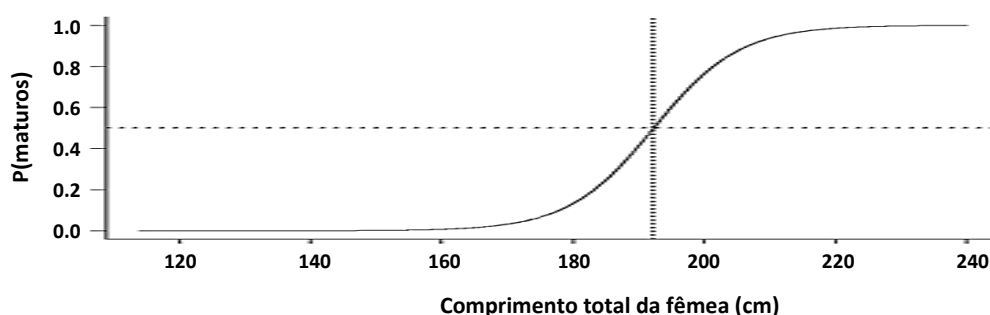


Figura 18 – Gráfico de frequências cumulativas de fêmeas maduras, mostrando o comprimento estimado para que 50% das fêmeas de Golfinho-comum estejam sexualmente maduras.

Em relação ao Golfinho-riscado, o seu comprimento total variou entre os 114cm e os 226cm e foi também possível verificar através de uma regressão logística que o estado de maturidade dos indivíduos (maturo ou imaturo) variou significativamente consoante o tamanho dos indivíduos ($Z_{29} = 2,596$, $P = 0,00943$), com maior probabilidade de animais maiores pertencerem à categoria dos maturos. O gráfico de frequência cumulativa (Fig. 19) da proporção de fêmeas maduras de Golfinho-riscado em relação ao seu comprimento total, indica que o comprimento total estimado para que 50% das fêmeas sejam sexualmente maduras é de 195,14cm (SE = 4.11).

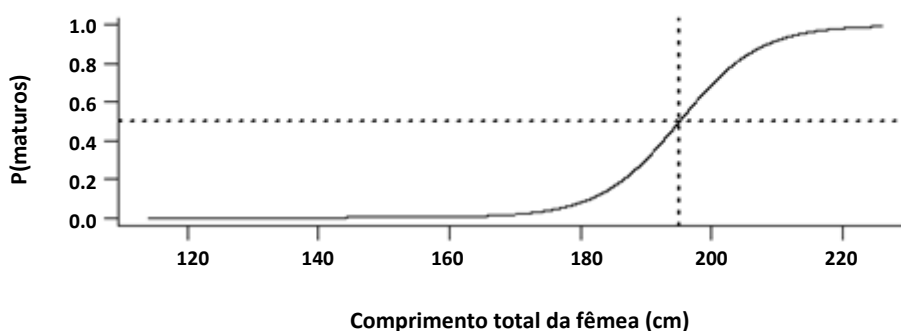


Figura 19 – Gráfico de frequências cumulativas de fêmeas maduras, mostrando o comprimento estimado para que 50% dos Golfinhos-riscados (fêmeas) estejam sexualmente maturos.

O Boto, sendo o mamífero mais pequeno da família dos cetáceos, apresentou um comprimento total entre os 84,5cm e os 219cm. Através de uma regressão logística foi também possível verificar que o estado de maturidade dos indivíduos (maturo ou imaturo) variou significativamente consoante o tamanho dos indivíduos ($Z_{76} = 3,257$, $P = 0,00113$), com maior probabilidade de animais maiores pertencerem à categoria dos maturos. O gráfico de frequência cumulativa (Fig. 20) da proporção de fêmeas maduras de Boto em relação ao seu comprimento total indica que o comprimento total estimado em que 50% das fêmeas são sexualmente maduras é de 168,90cm.

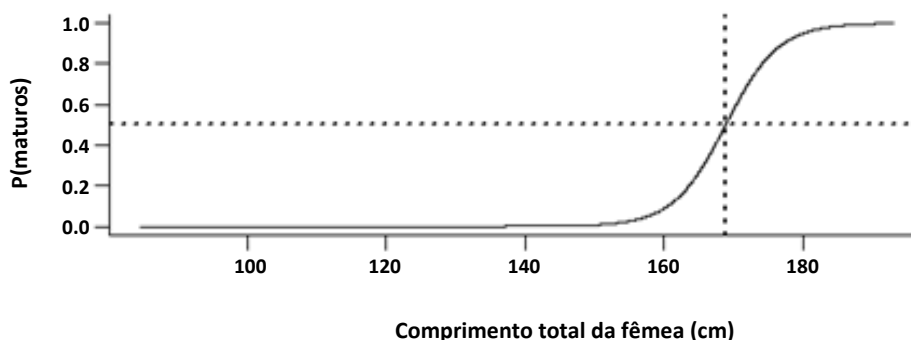


Figura 20 – Gráfico de frequências cumulativas de fêmeas maduras, mostrando o comprimento estimado para que 50% dos botos (fêmeas) estejam sexualmente maduros

O Roaz foi a espécie que apresentou os maiores comprimentos totais, variando entre os 201cm e os 314cm. Os indivíduos maduros apresentaram em média comprimentos totais maiores que os imaturos. No entanto, devido ao reduzido número de fêmeas analisadas não foi possível realizar uma regressão logística que mostrasse uma relação significativa entre o tamanho e a maturidade das fêmeas nem calcular o comprimento total em que 50% das fêmeas são sexualmente maduras.

No que diz respeito ao comprimento total das fêmeas analisadas, os valores médios foram variando ao longo dos anos de estudo, tanto para o Golfinho-comum (Fig. 21), para o Golfinho-riscado (Fig.22) e para o Boto (Fig. 23). No caso do Roaz, devido ao reduzido número de indivíduos analisados, não é possível avaliar a variação anual dos comprimentos totais das fêmeas.

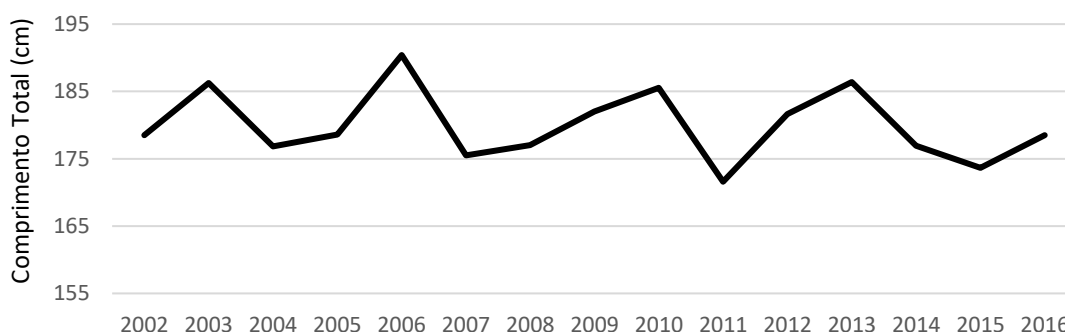


Figura 21 – Valores médios anuais do comprimento total (cm) das fêmeas de Golfinho-comum analisadas neste estudo.

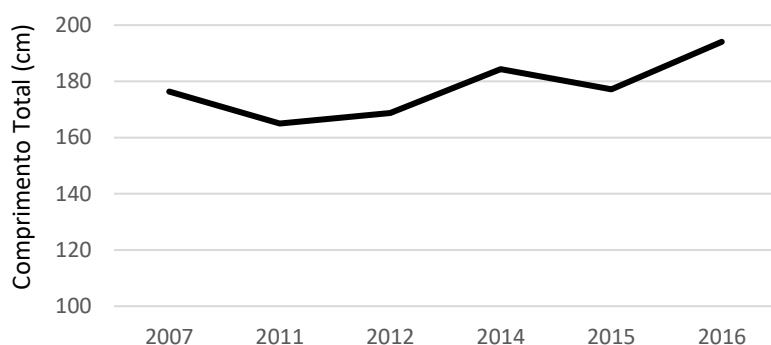


Figura 22 – Valores médios anuais do comprimento total (cm) das fêmeas de Golfinho-riscado analisadas neste estudo.

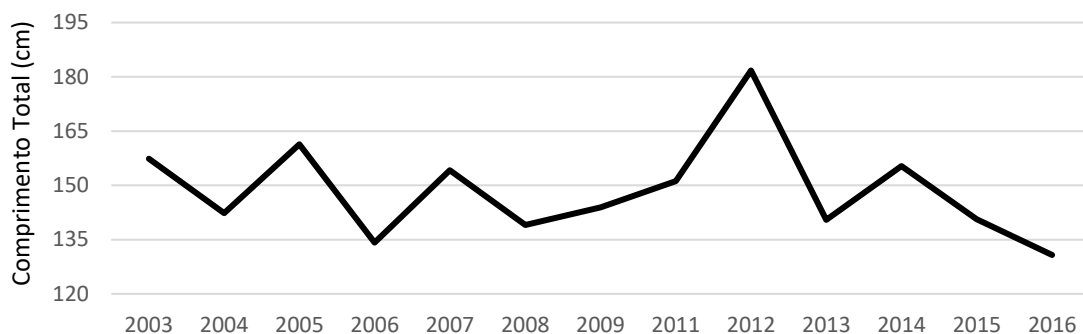


Figura 23 – Valores médios anuais do comprimento total (cm) das fêmeas de Boto analisadas neste estudo.

No que se refere às gónadas, os resultados sobre o peso, altura, largura e comprimento, estão resumidos nas tabelas II, III, IV e V respetivamente.

Os indivíduos maduros apresentaram ovários com tamanhos maiores e mais desenvolvidos em comparação com os organismos imaturos. Além disso, os ovários de fêmeas maduras eram maioritariamente mais escuros e enrugados e com uma textura mais áspera e rugosa enquanto os ovários de fêmeas imaturas apresentavam tonalidades mais claras e exteriormente a sua textura era lisa e suave. Foi também possível verificar que, em organismos maduros, o ovário esquerdo apresentava em média medidas maiores estando mais desenvolvido que o ovário direito.

No caso do Golfinho-comum, foi possível verificar regressões lineares positivas (Fig. 24) indicando que os valores do comprimento do ovário esquerdo e do ovário direito (logaritmizados) aumentavam à medida que aumentava o valor dos comprimentos totais das fêmeas (ovário esquerdo, $t_{272} = 11,434$, $P < 2,2 \times 10^{-16}$, $R^2 = 0,32$; ovário direito, $t_{270} = 12,481$, $P = 2,2 \times 10^{-16}$, $R^2 = 0,37$).

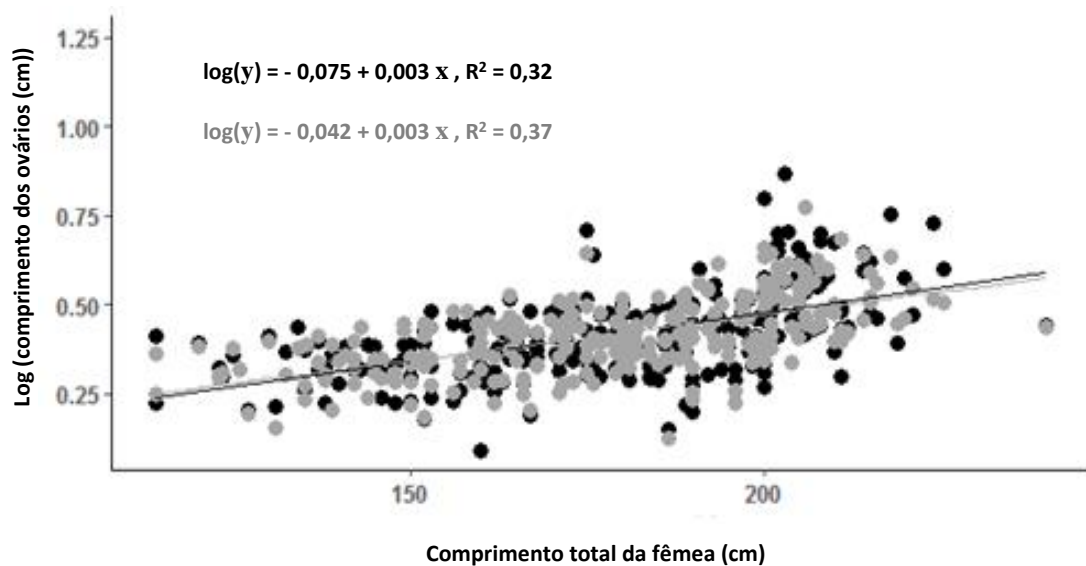


Figura 24 – Regressões lineares entre o comprimento total das fêmeas de Golfinho-comum analisadas e o comprimento do ovário esquerdo (preto) e do ovário direito (cinza).

Também para o Golfinho-comum, foi possível verificar uma regressão linear positiva (Fig. 25) entre a soma dos pesos do ovário esquerdo e direito (logaritmizados) e o valor dos comprimentos totais das fêmeas ($t_{275} = 16,31$, $P < 2,2 \times 10^{-16}$, $R^2 = 0,49$).

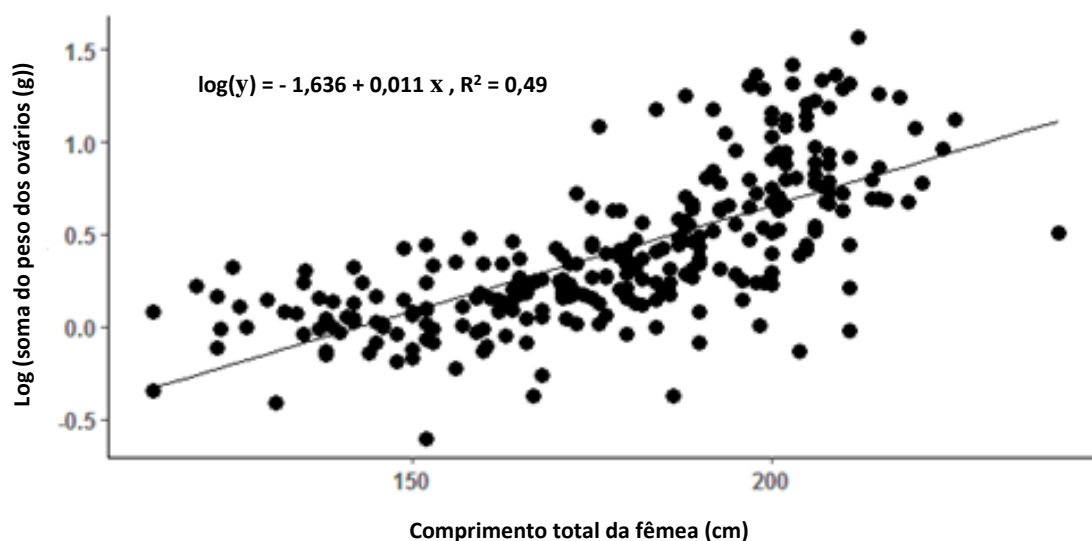


Figura 25 – Regressão linear entre o comprimento total das fêmeas de Golfinho-comum analisadas e a soma dos pesos do ovário e direito.

No caso do Golfinho-riscado, foi possível verificar regressões lineares positivas (Fig. 26) indicando que os valores do comprimento do ovário esquerdo e do ovário direito (logaritmizados) aumentavam à medida que aumentava o valor dos comprimentos totais dos indivíduos (ovário esquerdo, $t_{28} = 5.322$, $P = 1.15 \times 10^{-5}$, $r^2 = 0.50$; ovário direito, $t_{28} = 5.322$, $P = 0.000241$, $r^2 = 0.39$).

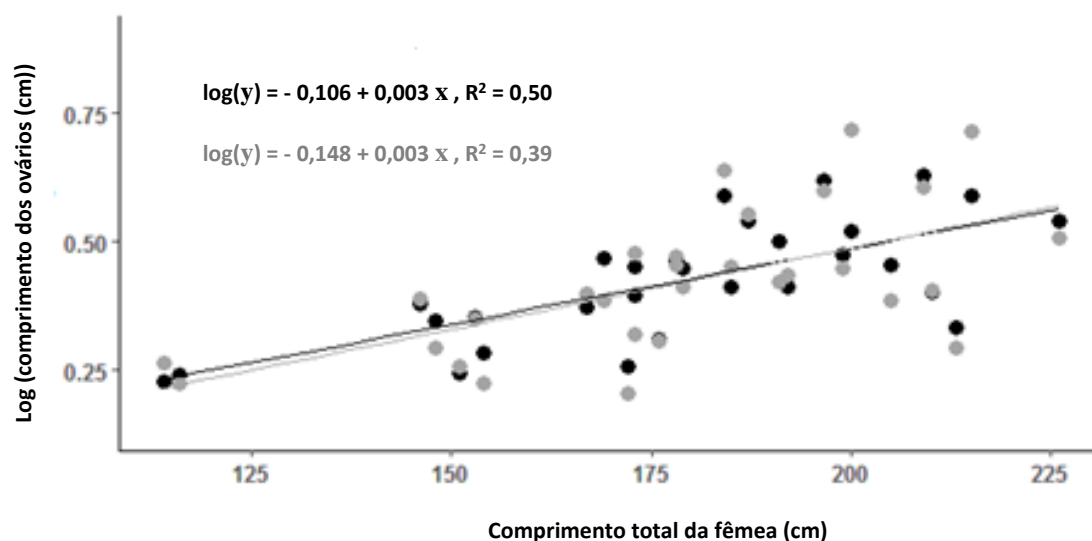


Figura 26 – Regressões lineares entre o comprimento total dos indivíduos analisados de Golfinho-riscado e o comprimento do ovário direito (cinza) e do ovário esquerdo (preto).

Também para o Golfinho-riscado, foi possível verificar uma regressão linear positiva (Fig. 27) entre a soma do peso dos ovários esquerdo e direito (logaritmizados) e o valor dos comprimentos totais dos indivíduos ($t_{28} = 5.322$, $P < 5.84 \times 10^{-8}$, $R^2 = 0.49$).

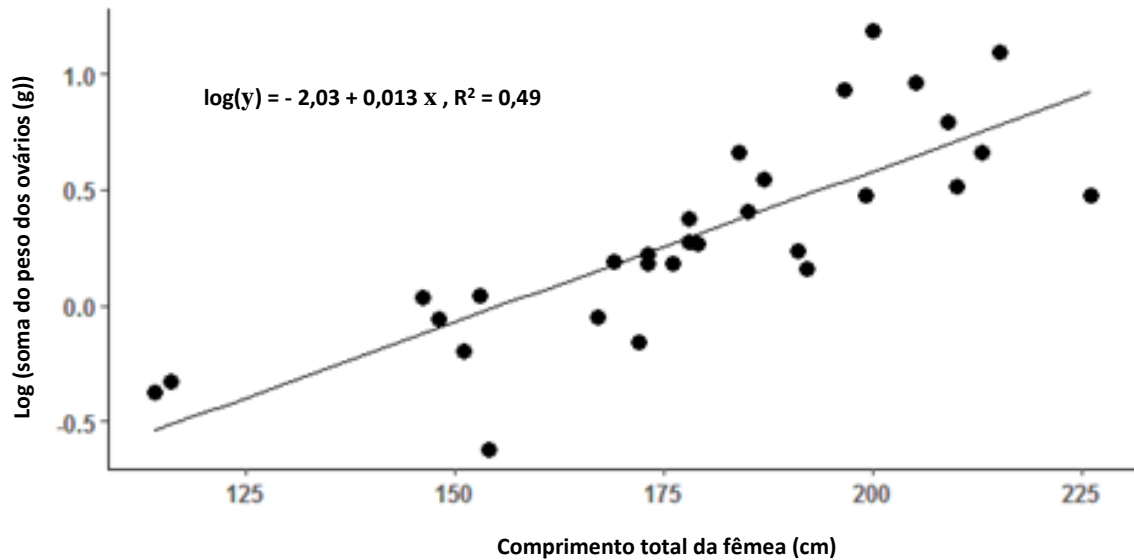


Figura 27 – Regressão linear entre o comprimento total dos indivíduos analisados de Golfinho-riscado e os pesos combinados do ovário e direito.

No caso do Boto, foi possível verificar regressões lineares positivas (Fig. 28) indicando que os valores do comprimento do ovário esquerdo e do ovário direito aumentavam à medida que aumentava o valor dos comprimentos totais dos indivíduos (ovário esquerdo, $t_{74} = 10.365$, $P = 4.62 \times 10^{-16}$, $r^2 = 0.59$; ovário direito, $t_{73} = 12,059$, $P < 2.2 \times 10^{-16}$, $r^2 = 0.67$).

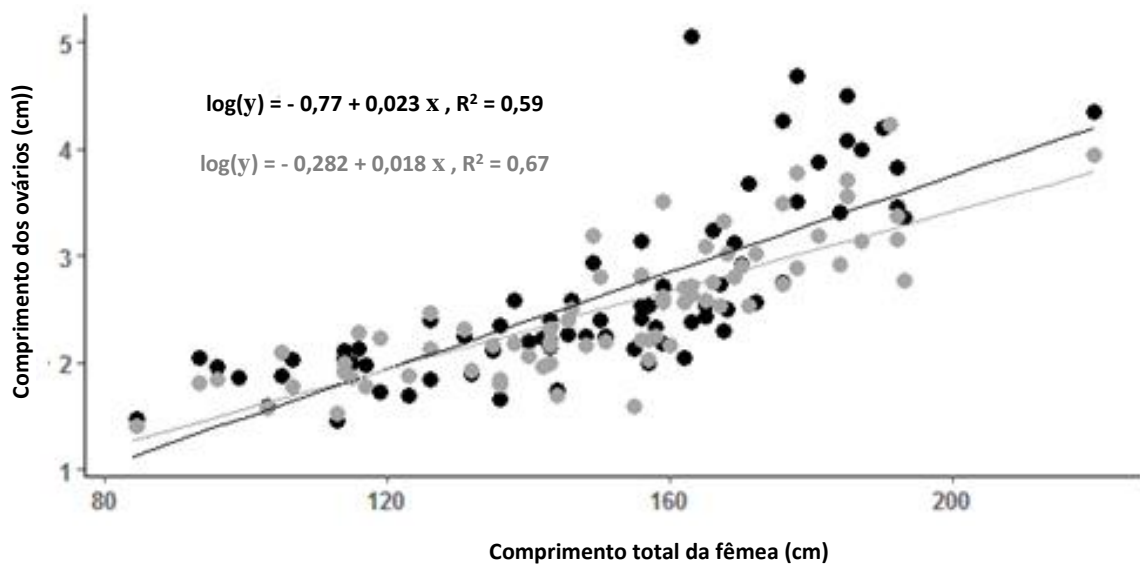


Figura 28 – Regressões lineares entre o comprimento total das fêmeas de Boto analisadas e o comprimento do ovário esquerdo (preto) e do ovário direito (cinza).

Também para o Boto, foi possível verificar uma regressão linear positiva (Fig. 29) entre os valores combinados dos pesos do ovário esquerdo e direito (logaritmizados) e o valor dos comprimentos totais dos indivíduos ($t_{76} = 14,34$, $P < 2,2 \times 10^{-16}$, $R^2 = 0,73$).

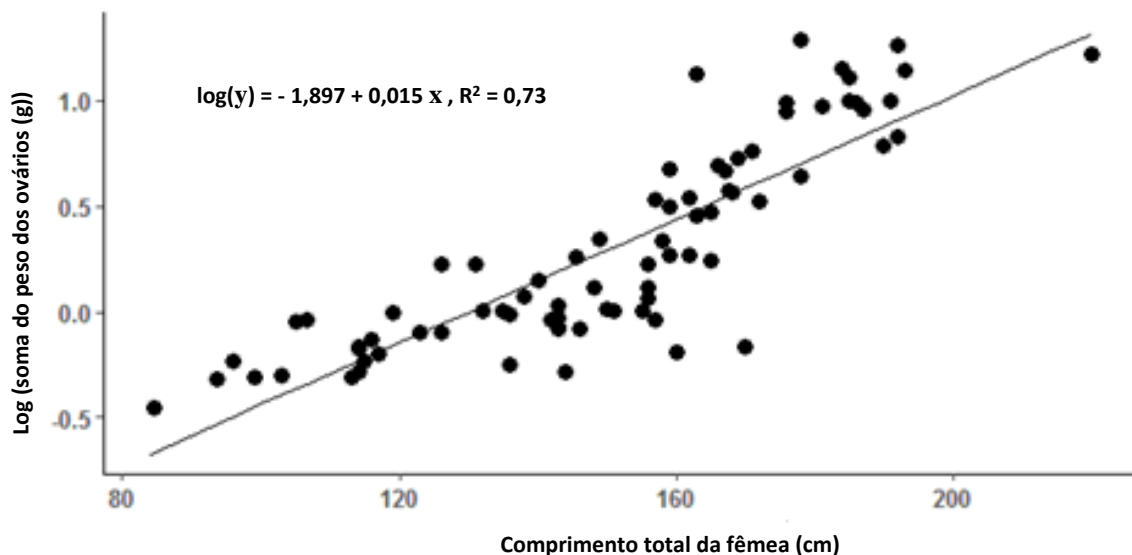


Figura 29 – Regressão linear entre o comprimento total dos indivíduos analisados de Boto e os pesos combinados do ovário e direito.

A tabela VI resume as informações relativas à presença de CLs e CAs nos ovários. Foi possível perceber que o ovário esquerdo apresentou um maior número de corpos nos ovários e que a proporção de fêmeas maduras que continham corpos no ovário esquerdo foi sempre bastante elevada. Para o Golfinho-comum, 93% das fêmeas maduras continham CAs nos ovários, sendo que 79% apresentavam os corpos no ovário esquerdo. Para o Golfinho-riscado, 100% das fêmeas maduras continham CAs nos ovários, sendo que 67% apresentavam os corpos no ovário esquerdo. Para o Boto, 84% das fêmeas maduras continham CAs nos ovários, sendo que 84% apresentavam os corpos no ovário esquerdo. Por fim, para o Roaz, 100% das fêmeas maduras continham CAs nos ovários, sendo que 80% apresentavam os corpos no ovário esquerdo.

Tabela II – Peso (g) dos ovários das fêmeas imaturas, maduras e total das espécies analisadas. DP, Desvio padrão; min-max, valores mínimos e máximos.

		Golfinho-comum	Golfinho-riscado	Boto	Roaz	
		Média ± DP (min-max)	Média ± DP (min-max)	Média ± DP (min-max)	Média ± DP (min-max)	
Peso (g)	Ovário esquerdo	Imaturos	0,94 ± 1,27 (0,14-16,46)	0,79 ± 0,55 (0,13-2,34)	0,66 ± 0,52 (0,17-3,04)	5,17 ± 2,1 (2,2-6,8)
		Maduros	5,80 ± 6,29 (0,68-35,85)	3,25 ± 2 (0,52-7,27)	7,38 ± 4,04 (1,31-14,21)	16,63 ± 13,46 (2,96-36,23)
		Total	2,65 ± 4,5 (0,14-35,85)	1,5 ± 1,62 (0,13-7,27)	2,31 ± 3,55 (0,17-14,21)	12,33 ± 12,07 (2,2-36,23)
		Imaturos	0,91 ± 0,73 (0,11-8,44)	0,78 ± 0,54 (0,11-2,29)	0,74 ± 0,62 (0,18-2,73)	4,96 ± 1,98 (2,23-6,83)
	Ovário direito	Maduros	3,06 ± 3,03 (0,51-17,74)	3,92 ± 4,29 (0,5-13,44)	2,97 ± 1,97 (1,13-8,38)	5,65 ± 3 (2,42-10,96)
		Total	1,67 ± 2,14 (0,11-17,74)	1,69 ± 2,76 (0,11-13,44)	1,29 ± 1,47 (0,18-8,38)	5,39 ± 2,68 (2,23-10,96)
		Imaturos	1,85 ± 1,60 (0,25-17,91)	1,57 ± 1,09 (0,24-4,63)	1,39 ± 1,02 (0,35-4,87)	10,13 ± 4,07 (4,43-13,63)
	Soma dos ovários	Maduros	8,86 ± 6,49 (1,77-37,36)	7,17 ± 4,43 (1,53-15,56)	10,35 ± 4,5 (4,39-19,39)	22,27 ± 15,6 (6,27-47,19)
		Total	4,32 ± 5,25 (0,25-37,36)	3,2 ± 3,6 (0,24-15,56)	3,6 ± 4,55 (0,35-19,39)	17,72 ± 13,89 (4,43-47,19)

Tabela III – Altura (mm) dos ovários das fêmeas imaturas, maduras e total das espécies analisadas. DP, Desvio padrão; min-max, valores mínimos e máximos.

		Golfinho-comum	Golfinho-riscado	Boto	Roaz	
		Média ± DP (min-max)	Média ± DP (min-max)	Média ± DP (min-max)	Média ± DP (min-max)	
Altura (mm)	Ovário esquerdo	Imaturos	8,31 ± 2,82 (3,2-28,4)	7,80 ± 2,87 (2,74-17)	6,05 ± 2,48 (2,66-14,62)	14,89 ± 3,14 (11-18,7)
		Maturos	14,17 ± 5,63 (5,01-36,87)	12,75 ± 3,46 (7,6-18,66)	15,81 ± 8,49 (6,25-38,29)	25,94 ± 12,54 (9,45-44,3)
		Total	10,37 ± 4,91 (3,2-36,87)	9,23 ± 3,79 (2,74-18,66)	8,46 ± 6,34 (2,66-38,29)	21,8 ± 11,43 (9,45-44,3)
	Ovário direito	Imaturos	8,17 ± 2,3 (3,36-17)	6,79 ± 1,72 (2,62-9,45)	6,56 ± 2,59 (3,26-13,5)	14,2 ± 3,26 (9,8-17,6)
		Maturos	12,2 ± 4,75 (5,4-26,14)	12,93 ± 8,48 (4,3-31,57)	11,09 ± 3,44 (5,60-18,44)	18,15 ± 4,04 (12,74-25,12)
		Total	9,57 ± 3,87 (3,36-26,14)	8,57 ± 5,54 (2,62-31,57)	7,68 ± 3,43 (3,26-18,42)	16,67 ± 4,23 (9,8-25,12)

Tabela IV – Largura (mm) dos ovários das fêmeas imaturas, maduras e total das espécies analisadas. DP, Desvio padrão; min-max, valores mínimos e máximos.

		Golfinho-comum	Golfinho-riscado	Boto	Roaz	
		Média ± DP (min-max)	Média ± DP (min-max)	Média ± DP (min-max)	Média ± DP (min-max)	
Largura (mm)	Ovário esquerdo	Imaturos	7,82 ± 2,33 (3,57-15)	7,29 ± 2,53 (3,72-13,07)	6,99 ± 2,29 (3,25-12,37)	13,98 ± 3,02 (11,7-18,25)
		Maturos	15,12 ± 7,26 (5,89-46,76)	14,58 ± 7,71 (4,1-28,7)	15,81 ± 4,94 (7,62-24,3)	17,43 ± 7,75 (8-29,37)
		Total	10,44 ± 5,91 (3,57-46,76)	9,41 ± 5,72 (3,72-28,7)	9,17 ± 4,94 (3,25-24,3)	16,14 ± 6,62 (8-29,37)
	Ovário direito	Imaturos	8,14 ± 2,26 (3,49-16,62)	8,22 ± 3,02 (3,7-13,87)	7,17 ± 2,59 (3-13,67)	15,3 ± 4,98 (10,6-22,2)
		Maturos	12,68 ± 5,64 (4,86-44,87)	13,51 ± 9,93 (6,11-20,07)	12,78 ± 5,07 (6,43-27,01)	15,23 ± 5,58 (9,20-25,6)
		Total	9,75 ± 4,38 (3,49-44,87)	9,76 ± 4,39 (3,7-20,07)	8,55 ± 4,16 (3,26-18,42)	15,26 ± 5,36 (9,2-25,6)

Tabela V – Comprimento (mm) dos ovários das fêmeas imaturas, maduras e total das espécies analisadas. DP, Desvio padrão; min-max, valores mínimos e máximos.

		Golfinho-comum	Golfinho-riscado	Boto	Roaz	
		Média ± DP (min-max)	Média ± DP (min-max)	Média ± DP (min-max)	Média ± DP (min-max)	
Comprimento (mm)	Ovário esquerdo	Imaturos	23,51 ± 4,53 (5,7-36)	25,01 ± 6,13 (13,7-38,9)	22,1 ± 3,82 (14,61-32,43)	44,43 ± 9,33 (31,3-52,2)
		Maturos	34,32 ± 10,18 (18,57-73,7)	31,87 ± 7,89 (20,4-42,57)	36,53 ± 7,46 (20,55-50,6)	44,57 ± 16,23 (31,1-75,5)
		Total	27,35 ± 8,75 (5,7-73,7)	27 ± 7,38 (13,7-42,57)	25,66 ± 7,96 (14,61-50,6)	44,52 ± 14,05 (31,1-75,5)
	Ovário direito	Imaturos	23,88 ± 4,5 (13,40-38,17)	24,52 ± 6,86 (13,5-43,5)	22,77 ± 5,19 (14,02-42,57)	43,59 ± 8,58 (32,2-52,9)
		Maturos	32,64 ± 6,74 (16,79-59,15)	33,93 ± 11,92 (19,6-52,16)	32,03 ± 4,86 (25,30-42,24)	38 ± 5,9 (27,7-44,6)
		Total	26,99 ± 6,84 (13,4-59,15)	27,25 ± 9,64 (13,5-52,16)	25,05 ± 6,49 (14,02-42,57)	40,1 ± 7,53 (27,7-52,9)

Tabela VI – Número de CAs e CLs nos ovários de fêmeas maduras e proporção de fêmeas maduras que continham CAs ou CLs nos ovários. DP, Desvio padrão; min-max, valores mínimos e máximos.

		Golfinho-comum		Golfinho-riscado		Boto		Roaz	
		Média ± DP (min-max)	Proporção de fêmeas maduras (%)	Média ± DP (min-max)	Proporção de fêmeas maduras (%)	Média ± DP (min-max)	Proporção de fêmeas maduras (%)	Média ± DP (min-max)	Proporção de fêmeas maduras (%)
Corpos Albicans	Ovário esquerdo	5,69 ± 4,06 (0-19)	79%	4,00 ± 3,24 (0-11)	67%	4,26 ± 2,44 (0-11)	84%	3,40 ± 2,28 (0-8)	80%
	Ovário direito	2,07 ± 2,28 (0-13)	38%	1,56 ± 1,68 (0-7)	56%	1,37 ± 2,20 (0-19)	21%	1,80 ± 1,50 (0-6)	40%
	Total	7,76 ± 5,05 (0-24)	93%	5,56 ± 3,53 (0-12)	100%	5,63 ± 3,53 (0-21)	84%	5,20 ± 1,72 (0-8)	100%
Corpos Lúteos	Total	0,30 ± 0,31 (0-1)	30%	0,44 ± 0,41 (0-1)	44%	0,68 ± 0,37 (0-1)	68%	0,80 ± 0,47 (0-2)	60%

Considerando apenas os indivíduos que apresentavam CA e/ou CL, o número total de corpos nos ovários de Golfinho-comum foi relacionado com os comprimentos totais das fêmeas (Fig. 30). A regressão, apesar de significativa, explica apenas uma pequena parte da variabilidade dos dados de resposta ($Z_{94} = 3.031$, $P = 0.0024$, $R^2 = 0.087$).

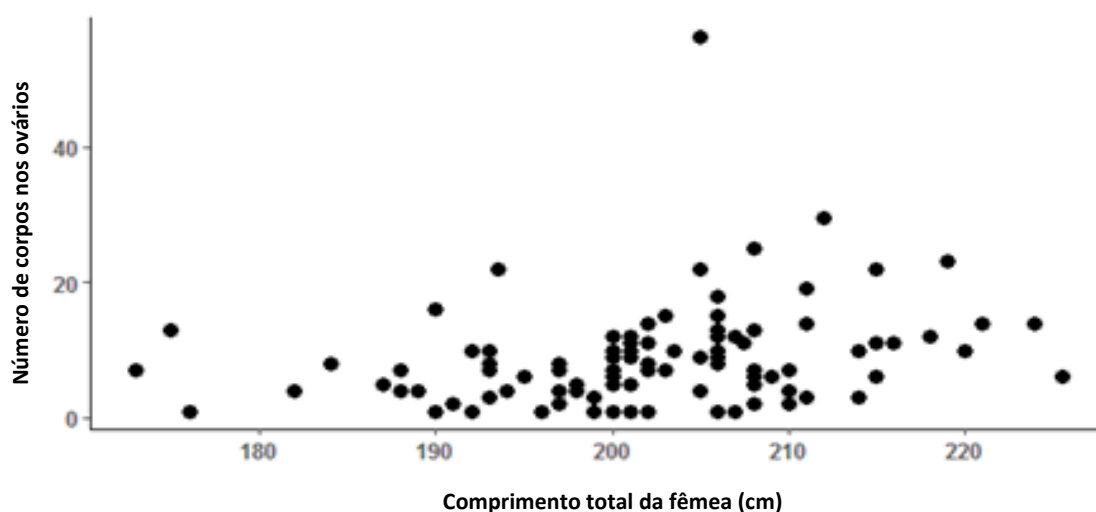


Figura 30 – Número total de corpos nos ovários de Golfinho-comum em relação aos comprimentos totais dos indivíduos

Considerando apenas os indivíduos de Golfinho-riscado que apresentavam CA e/ou CL, o reduzido número de indivíduos ($n = 9$) não permitiu estimar nenhuma relação entre o número total de corpos nos ovários e os comprimentos totais dos indivíduos (Fig. 31).

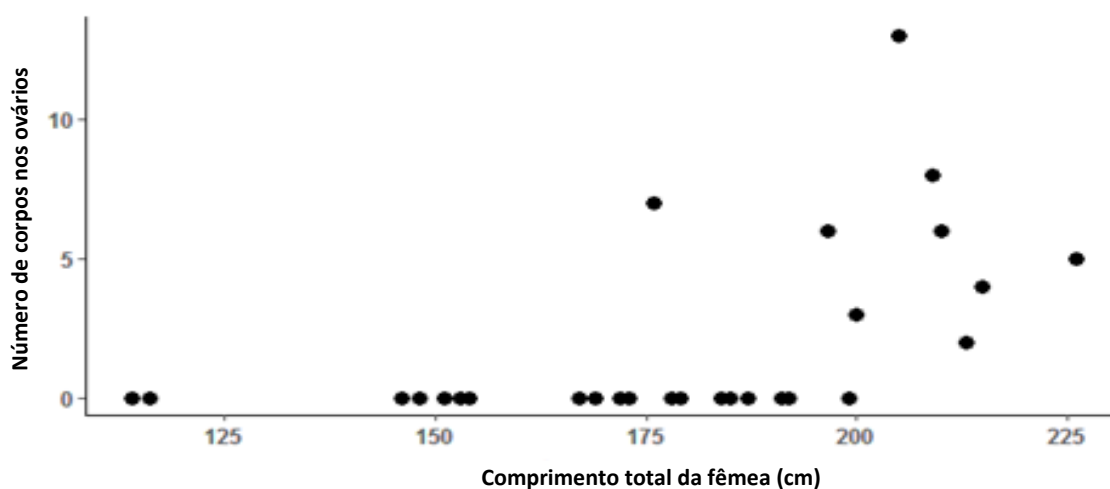


Figura 31 – Número de corpos nos ovários das fêmeas de Golfinho-riscado analisadas de acordo com o comprimento total das fêmeas.

Considerando apenas os indivíduos que apresentavam CA e/ou CL, o número total de corpos nos ovários de Boto foi relacionado com os comprimentos totais dos indivíduos (Fig. 32). A regressão obtida não é significativa ($Z_{19} = 1.284$, $P = 0.199$).

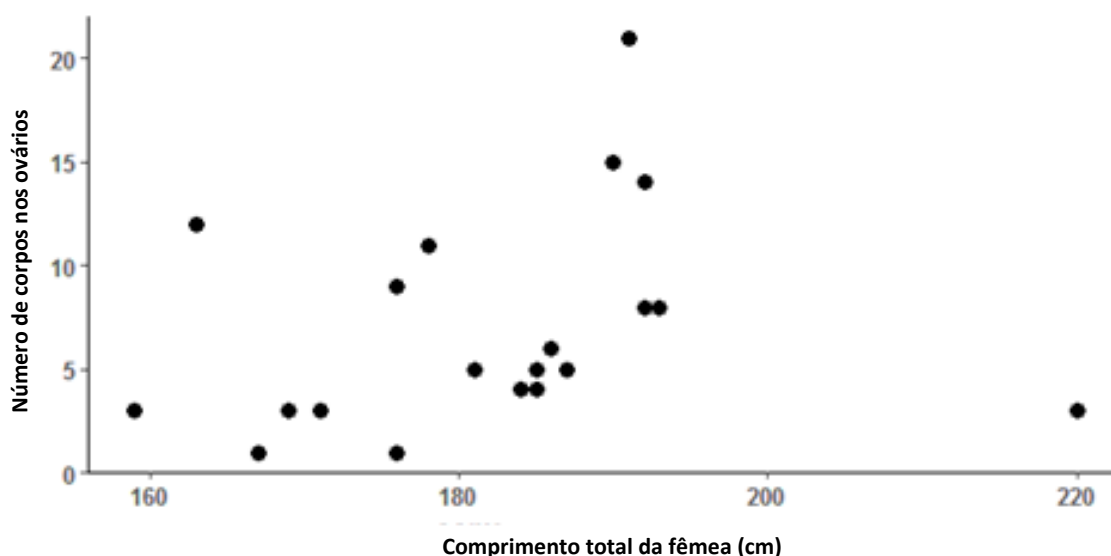


Figura 32 – Número total de corpos nos ovários de Boto em relação aos comprimentos totais dos indivíduos

Devido ao reduzido número de Roazes analisados, não foi possível realizar uma regressão fiável que relacionasse o número total de corpos nos ovários e os comprimentos totais dos indivíduos.

O diâmetro médio dos CAs presentes nos ovários foram medidos e os resultados foram compilados na tabela VII. Foi possível perceber que o Roaz e o Boto apresentavam as cicatrizes de maiores dimensões, seguido pelo Golfinho-comum e por fim pelo Golfinho-riscado. No entanto, a cicatriz de maiores dimensões foi encontrada num ovário de Golfinho-comum.

Tabela VII – Diâmetro (mm) médio dos CAs presentes nas fêmeas das espécies analisadas. DP, Desvio padrão; min-max, valores mínimos e máximos.

	Golfinho-comum	Golfinho-Riscado	Boto	Roaz
Diâmetro médio (mm)	6.1 ± 2.72 (1.47-21.96)	5.69 ± 1.76 (2.29-10.58)	7.34 ± 1.84 (3.81-10.81)	7.70 ± 3.59 (3.88-13.94)

CAPÍTULO 4

DISCUSSÃO

As diversas pressões que afetam atualmente as populações de mamíferos marinhos levaram ao declínio de algumas espécies, sendo que muitas espécies estão em condição crítica, como é o caso da população de Boto, considerada Vulnerável em Portugal (Cabral *et al.*, 2006). Compreender os padrões de reprodução dos mamíferos marinhos em geral, e especialmente os padrões das espécies classificadas, é crucial para a avaliação da viabilidade da população, do seu potencial de recuperação e para a proposta de ações de conservação adequadas. No entanto, a determinação de parâmetros reprodutores de espécies de mamíferos marinhos é um desafio devido às suas amplas distribuições, alta mobilidade, *habitats* de difícil acesso, estilos de vida crípticos, etc. Assim, torna-se necessária a utilização de métodos indiretos para podermos avaliar alguns aspetos da reprodução de mamíferos marinhos (Lanyon & Burgess, 2014).

O presente trabalho está enfocado na avaliação do estado reprodutor de algumas espécies de cetáceos da costa Portuguesa, através do estudo e caracterização dos ovários. Este é um método já amplamente utilizado em diferentes espécies de cetáceos e noutras regiões do mundo (p.e.: Ohsumi, 1964; Marsh & Kasuya, 1986; Hohn *et al.* 1996; Weber Rosas, 2002; Dabin *et al.*, 2008). No presente estudo foi possível analisar um número bastante representativo de pequenos cetáceos ($n = 388$). No entanto, as maiores proporções de amostra correspondem a Golfinho-comum ($n = 272$, 70%) e Boto ($n = 77$, 20%), o que torna os resultados para estas espécies comparativamente mais robustos do que os resultados obtidos para Golfinho-riscado e Roaz, que no seu conjunto correspondem a apenas 10% da amostra. Um estudo anterior focado em pequenos cetáceos do noroeste da Península Ibérica (Read, 2015) utilizou um número de indivíduos relativamente similar (Golfinho-comum, $n = 221$; Boto, $n = 60$).

Por se tratarem de mamíferos de vida longa, os cetáceos são muito sensíveis aos efeitos cumulativos da exposição a condições adversas ao longo do espaço e do tempo (Murphy *et al.*, 2009). No presente estudo, o número anual de indivíduos analisados foi muito variável, não tendo sido possível obter um número equitativo de indivíduos em cada

um dos anos analisados. Apesar da grande variação do número de arrojamentos de animais marinhos registados anualmente, foi confirmada a existência de picos de arrojamentos, especialmente nos anos de 2011, 2012 e 2014, de acordo com o que já tinha sido referenciado por Ferreira (2016), sendo que estes anos contribuíram com o maior número de amostras para o presente estudo.

Por um lado, a grande variabilidade de arrojamentos ao longo dos anos de estudo pode estar relacionada com condições meteorológicas e com o estado do mar, ainda que indiretamente (Honma *et al.*, 2004). Por outro lado, e de acordo com o que tem vindo a ser constatado nos últimos anos em Portugal Continental (Ferreira, 2012; 2016), a captura accidental por artes de pesca é um fator importante que determina a variabilidade anual de arrojamentos, sendo que representa a causa de morte identificada na maioria das fêmeas arrojadas (70%). No presente estudo, foi registada uma baixa percentagem de arrojamentos cuja causa pudesse ser atribuída a patologias. No entanto, uma vez que a causa do arrojamento pode não refletir a saúde geral do animal (Read, 2015) podemos apenas inferir que as amostras analisadas seriam provenientes de indivíduos que não sofreriam de patologias importantes que pudessem enviesar extensivamente os resultados referentes à reprodução obtidos no presente estudo.

De facto, a captura accidental de pequenos cetáceos por interação com diversas artes de pesca tem sido frequentemente relatada não só na Península Ibérica (López *et al.*, 2004; Vingada *et al.*, 2012; Santos *et al.*, 2014) como noutras partes do mundo (p.e.: Bearzi *et al.*, 2006; Spyarakos *et al.*, 2011; Lassalle *et al.*, 2012). Estas interações estão muitas vezes associadas ao facto de que, quer os pescadores quer os cetáceos, procuram zonas de maior abundância de recursos (Pereira, 2015) tendo diversas consequências quer para os pequenos cetáceos, quer para os pescadores (Goetz *et al.*, 2013; Santos *et al.*, 2013).

No que diz respeito à maturidade dos indivíduos arrojados, a elevada percentagem de fêmeas imaturas registada (67%) está de acordo com diversos estudos anteriores (p.e.: Sequeira, 1996; López *et al.*, 2002; López, 2003; Silva & Sequeira, 2003; Honma *et al.*, 2004; Margarido, 2015; Read, 2015) e indica que a mortalidade mais elevada está associada às classes etárias mais jovens. No caso do Golfinho-comum, do Golfinho-riscado e particularmente no caso do Boto (75% da amostra corresponde a animais imaturos), os

resultados obtidos indicam que, independentemente dos possíveis valores de taxa de natalidade, o recrutamento de novos fêmeas para a classe de indivíduos reprodutores nestas populações é relativamente baixo.

De facto, para determinar se um nível de mortalidade de pequenos cetáceos ameaça a estabilidade das respetivas populações, é vital examinar, entre outros dados, a taxa de recrutamento de cada população. A taxa de recrutamento é uma estimativa do número de indivíduos recém-nascidos que sobrevivem para entrar na população adulta. Por exemplo, conhecer a taxa de recrutamento é uma informação importante a fornecer aos decisores políticos quando se torna necessário fazer uma estimativa da mortalidade de cetáceos que pode ser "admissível" (Abel & McConnell, 2009). As estimativas de *Potential Biological Removal* (PBR) para cada população são muito importantes (Ballance & Moore, 2014). Por parte dessa mortalidade, o PBR é particularmente importante na perspetiva da manutenção da estabilidade populacional, principalmente, mediante uma atividade económica responsável, como é normalmente o caso do sector pesqueiro a nível mundial.

Assim, considerando a elevada percentagem de fêmeas imaturas registada no presente estudo, dificilmente poderemos prever um incremento no número de efetivos na população de Boto que utiliza a costa portuguesa, uma vez que a maioria dos indivíduos que nascem não atingem uma faixa etária que lhes permita a sua própria reprodução.

Em geral, a elevada percentagem de fêmeas imaturas registada (67%) pode estar relacionado com o facto de os animais mais jovens estarem menos adaptados a condições meteorológicas adversas e ao estado do mar e terem menor capacidade para escapar à captura accidental (Homna *et al.*, 2004). Além disso, enquanto juvenis, alguns cetáceos tendem a viver mais perto das zonas costeiras, alimentando-se preferencialmente perto da costa e por isso mais sujeitos a fatores de pressão humana. Quando atingem a idade adulta tornam-se mais aptos a afastar-se da costa e a explorar as correntes oceânicas para se alimentarem (Rose & Hassler, 1974). No presente estudo, o Roaz foi a única espécie que apresentou uma maior percentagem de animais maduros arrojados, no entanto, devido ao reduzido número de fêmeas analisadas este resultado não é conclusivo.

As estimativas dos parâmetros da história da vida podem variar entre diferentes populações da mesma espécie e até mesmo dentro da mesma população. As possíveis

causas dessa variação incluem a utilização de métodos analíticos distintos, um tamanho da amostra inadequado ou uma amostragem enviesada. Por outro lado, as variações detetadas podem representar alterações reais nas populações. Ao longo do tempo, estas alterações podem ter efeitos no estado da população e podem evidenciar diferenças reais entre populações (Perrin & Reilly, 1984).

O conhecimento do tamanho de maturação das fêmeas é um dado da história de vida bastante útil, uma vez que permite estimar o estado de maturidade dos animais para os quais apenas estão disponíveis os dados de comprimento total (Perrin & Reilly, 1984). Além disso pode constituir uma ferramenta essencial em estudos fotogramétricos para estimar a proporção de animais maduros de determinada população (Tarpley *et al.*, 2016). A utilização de fotogrametria (obtenção de dados biométricos através de fotografias) em cetáceos no oceano tem sido utilizada há já algum tempo (Perryman & Lynn, 1993; Bräger & Chong, 1999; Chong & Schneider, 2001). No entanto, mais recentemente a fotogrametria tem sido utilizada a partir de novas plataformas como os veículos de navegação autónoma, vulgarmente conhecidos como “drones” (Durban *et al.*, 2016; Mason, 2017; Hupman *et al.*, 2017). Hipoteticamente, se no futuro for possível um estudo de fotogrametria na costa portuguesa, poderíamos tentar estimar a proporção de indivíduos imaturos e maduros dos indivíduos fotografados. Para isso, utilizaríamos o valor do comprimento total de maturação das fêmeas estimado no presente estudo para o Golfinho-comum, o Golfinho-riscado e para o Boto (mediante valores de sex-ratio previamente obtidos).

Os resultados da análise do comprimento total de maturação das fêmeas, obtidos no presente estudo, são consistentes com estudos anteriores (Perrin & Reilly, 1984; Calzada *et al.*, 1996; Read, 2015) (Tabela VIII).

Tabela VIII – Comprimento total de maturação das fêmeas das espécies analisadas

	Comprimento total de maturação (cm)				
	Golfinho-comum	Golfinho-riscado	Boto	Roaz	
Costa oeste portuguesa	192	195	169	-	presente estudo
Costa noroeste da Península Ibérica	190	-	166	277	Read, 2015
Mar Mediterrâneo	-	187	-	-	Calzada <i>et al.</i> , 1996
Atlântico Norte	193	-	-	252	Perrin & Reilly, 1984

No futuro, será necessário continuar a monitorizar o comprimento total de maturação das fêmeas. Se algum dos valores estimados para qualquer das espécies analisadas vier a ser inferior aos valores reportados na bibliografia, poderemos estar perante a ocorrência de alterações reais nas populações ao longo dos anos. Considerando que o comprimento total dos pequenos cetáceos é em geral usado como uma indicação da idade do indivíduo (Rosas *et al.*, 2003; Siciliano *et al.*, 2007; Gol'din & Gladilina 2015; Lima *et al.* 2017), um menor comprimento total de maturação das fêmeas poderia indicar que as fêmeas de uma determinada população estão a atingir a maturidade numa fase mais jovem. Neste caso, tem sido sugerido que a maturidade precoce pode ser uma resposta a um sucesso reprodutor mais reduzido ao longo da vida (p.e.: Kerem *et al.*, 2013).

Para as quatro espécies de pequenos cetáceos incluídas neste estudo, os valores médios do comprimento total das fêmeas analisadas foram variando ao longo dos anos, sendo que para alguns dos anos a amostra era muito reduzida. Esta variação indica-nos que seria necessário uma série de dados maior (fêmeas analisadas durante um período mais longo ou um maior número de fêmeas analisadas durante o período estudado) para reduzirmos a variabilidade no valor médio anual do comprimento total das fêmeas analisadas, e para obtermos resultados que pudessem ser considerados mais robustos.

Relativamente às gónadas, foi possível perceber um aumento geral nas dimensões dos ovários à medida que aumenta o comprimento total das fêmeas analisadas mas, tal como em Tarpley *et al.* (2016), não foi possível uma distinção clara entre fêmeas maduras e imaturas apenas com base nas dimensões dos ovários.

Na maioria dos Odontocetes, o ovário esquerdo é a gónada ativa (ou pelo menos a primeira a tornar-se ativa), embora o ovário direito também seja totalmente funcional (ver compilação em Miller 2016; Cozzi *et al.*, 2016). Como consequência, o ovário esquerdo é geralmente maior do que o direito e são encontrados muitos mais corpos na gónada esquerda do que na direita (Harrison & Ridgway, 1971).

No que diz respeito à acumulação de corpos nos ovários, existem três tipos de acumulação possíveis (Ohsumi, 1964). A acumulação de corpos na maioria dos pequenos cetáceos, nomeadamente nas espécies analisadas no presente estudo, corresponde ao tipo III (Ohsumi, 1964; Fisher & Harrison, 1970; Perrin & Donovan, 1984; Brook *et al.*, 2002; Dabin *et al.*, 2008; Pomeroy, 2011; Read, 2015; Tarpley *et al.*, 2016). O tipo III é identificado por uma diferença notável na taxa de acumulação de corpos entre o ovário esquerdo e o ovário direito, sendo que o ovário esquerdo atinge a maturidade antes do direito. Nestes casos, a ovulação ocorre apenas a partir do ovário esquerdo durante um período de tempo relativamente longo ou até à ocorrência de um número relativamente elevado de ovulações. Posteriormente, ocorre a maturação do ovário direito, passando este a acumular corpos com maior frequência que o ovário esquerdo (Ohsumi, 1964). A alternância entre os ovários é por vezes também apontada como uma consequência de danos ou doenças que ocorrem no ovário esquerdo e que o tornam disfuncional (Pomeroy, 2011). Os resultados do presente estudo estão de acordo com estas observações, tendo-se verificado que em organismos maduros, o ovário esquerdo apresentava em média medidas maiores, estando mais desenvolvido que o ovário direito e que apresentava um maior número de corpos. Além disso, a proporção de fêmeas maduras que continham corpos no ovário esquerdo foi sempre bastante elevada e superior à proporção de fêmeas que continham corpos no ovário direito.

A persistência dos CAs nos ovários dos cetáceos é um dos temas mais debatidos pelos cientistas, ao longo dos anos (Fisher & Harrison, 1970; Marsh & Kasuya, 1984; Brook *et al.*, 2002; Fukui, 2007; Dabin *et al.*, 2008; George *et al.*, 2011; Read, 2015; Tarpley *et al.*, 2016). No que diz respeito aos grandes cetáceos, pertencentes à subordem Mysticeti, vários estudos têm comprovado a persistência dos CA nos ovários e demonstrado que estes refletem as ovulações ocorridas ao longo da vida das fêmeas fornecendo um registo fiel do

seu ciclo reprodutivo e uma ferramenta para estimar a idade dos indivíduos (Marsh & Kasuya, 1984; George *et al.*, 2011; Tarpley *et al.*, 2016). No entanto, é possível que Odontocetes e Mysticetes sejam diferentes na acumulação e persistência dos CA. De facto, para os pequenos cetáceos não tem sido possível comprovar que os CA permanecem visíveis nos ovários durante toda a vida das fêmeas (Fisher & Harrison, 1970; Marsh & Kasuya, 1984; Brook *et al.*, 2002; Fukui, 2007; Dabin *et al.*, 2008; George *et al.*, 2011; Read, 2015; Tarpley *et al.*, 2016).

Nos pequenos cetáceos ocorrem dois tipos de CA (cuja distinção é bastante difícil): os CA de gestação, resultantes da regressão de CL bem desenvolvidos durante o período de gestação; e os CA de ovulação, resultantes da regressão de CL menos desenvolvidos correspondentes a ovulações inférteis, de oócitos não fertilizados (Marsh & Kasuya, 1984; Fukui, 2007; Dabin *et al.*, 2008). Os CA de gestação têm geralmente tamanhos superiores e estão localizados sobre a superfície do ovário enquanto os CA de ovulação estão mais incorporados no interior do ovário e apresentam menores dimensões. No entanto, macroscopicamente, os CA de gestação dificilmente poderão ser diferenciados dos CA de ovulação (Fukui, 2007). Nos últimos anos, diversos estudos em organismos em cativeiro têm demonstrado que CA de ovulação tendem a regredir por completo e a ser completamente incorporados pelo ovário, não sendo possível identificá-los, enquanto os CA de gestação tendem a regredir de forma mais lenta, atingindo um limite mínimo de regressão e permanecendo permanentemente visíveis no ovário (Brook *et al.*, 2002; Fukui, 2007; Dabin *et al.*, 2008; George *et al.*, 2011). A taxa de regressão dos CA pode ser influenciada pelo estado hormonal do animal, o que torna difícil estimar o tempo necessário para que um CA de ovulação regrida por completo e seja completamente incorporado pelo ovário (Marsh & Kasuya, 1984).

Por outro lado, através de estudos de microscopia e histologia foi possível identificar algumas diferenças na morfologia e composição dos CA presentes nos ovários de pequenos cetáceos. Os CA de gestação são geralmente maiores e caracterizam-se pela presença de vasos sanguíneos periféricos grandes, são ricos em elastina e possuem quantidades variáveis de material fibrinóide extracelular e mucoprotéico dispostos em lóbulos e vasos sanguíneos que irradiam para dentro do corpo. CA de ovulação são geralmente mais

pequenos, possuem quantidades substanciais de colagénio e baixas quantidades de elastina. Carecem de material extracelular e consistem essencialmente numa massa de vasos sanguíneos enrolados com aglomerados de elementos celulares degenerados (Fisher & Harrison, 1970; Brook *et al.*, 2002; Takahashi *et al.*, 2006).

As diferenças na composição dos CA podem estar na origem da variabilidade da sua persistência nos ovários, nomeadamente a acumulação de elastina, sendo que quanto maior o conteúdo em elastina, maior a probabilidade da cicatriz se tornar permanente no ovário (Brook *et al.*, 2002; Takahashi *et al.*, 2006). Nos indivíduos analisados por Takahashi *et al.* (2006), menos de 15% continham cicatrizes com baixa proporção de elastina o que refuta a ideia de que cicatrizes de ovulação tendem a desaparecer por completo dos ovários de pequenos cetáceos. Futuramente, seria importante investigar o tecido cicatricial de cada CA, usando por exemplo imunohistoquímica (Read, 2015), de forma a perceber também a idade das cicatrizes.

No presente estudo não foi possível distinguir CA de gestação de CA de ovulação. É de esperar que o número de cicatrizes que correspondem a ovulações seja reduzido uma vez que ovulações inférteis são eventos raros em animais selvagens e que estas tendem a regredir na totalidade (Brook *et al.*, 2002; Takahashi *et al.*, 2006). No entanto, outros fatores devem ser tomados em consideração quando se avalia a presença de cicatrizes nos ovários. Por exemplo, Murphy *et al.* (2010) reportaram uma associação entre concentrações elevadas de Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) e números reduzidos de cicatrizes nos ovários de botos.

Apesar de não ter sido possível confirmar quais as cicatrizes encontradas que correspondiam a CA de gestação podemos perceber que o número de CA nos ovários analisados corresponde ao que era esperado, tendo em conta o período entre gestações das diferentes espécies. O Boto sendo capaz de se reproduzir a cada ano, apresentou o número mais elevado de cicatrizes, seguido do Golfinho-comum, cujo período entre gestações varia entre 1 a 3 anos, o Golfinho-riscado, com um período entre gestações de 3 a 4 anos, e o Roaz, com um período entre gestações de 3 a 6 anos.

Quando relacionado o número total de corpos nos ovários com o comprimento total da fêmea, não foi possível obter resultados significativos para nenhuma das espécies

analisadas no presente estudo. No entanto, o aumento do número total de corpos nos ovários em indivíduos com valores mais elevados de comprimento total foi verificado anteriormente em alguns estudos (Takahashi *et al.*, 2006; Read, 2015), ainda que existam outros que mostraram o resultado contrário (p.e.: Fisher & Harrison, 1970; Harrison & Ridgway, 1971; Brook *et al.*, 2002; George *et al.*, 2011; Read, 2015; Tarpley *et al.*, 2016). Diversos fatores devem ser considerados na interpretação destes resultados incluindo a possível variação individual no comprimento total das fêmeas adultas, sendo que fêmeas mais pequenas podem ser reprodutivamente mais ativas ou podem ter maior sucesso reprodutivo, a possibilidade de que os CA podem não permanecer permanentemente nos ovários, etc. (Tarpley *et al.*, 2016). Não foi possível comparar o número de corpos no ovário com a idade das fêmeas e assim não podemos inferir se as cicatrizes se mantêm ou não permanentemente nos ovários dos pequenos cetáceos. Futuramente, será importante perceber se existe relação entre a idade (estimada a partir da contagem dos anéis de crescimento em cortes histológicos dos dentes) e a acumulação de corpos nos ovários para uma melhor interpretação dos resultados.

Apesar do debate ao redor da persistência dos CA nos ovários, a contagem de CA tornou-se uma ferramenta altamente útil para estimar o histórico reprodutivo das espécies de pequenos cetáceos e estudar alguns parâmetros de história de vida dos mesmos (Takahashi *et al.*, 2006). Em geral, e conforme já foi dito, é importante determinar os parâmetros de história de vida dos pequenos cetáceos, a fim de avaliar mudanças na dinâmica das populações afetadas, principalmente pela captura acidental, e criar planos de conservação com melhores hipóteses de sucesso (Murphy *et al.*, 2009; Read, 2015).

A utilização de informações provenientes de animais arrojados está sempre sujeita a erros e possíveis enviesamentos. Os animais que chegam à costa e arrojam nas praias constituem uma pequena proporção da população, sendo maioritariamente aqueles que se aproximam mais das zonas costeiras. No entanto, este tipo de estudos permitem obter informações reais sobre o estado da população e sobre as suas tendências, e é muitas vezes o único método disponível para estudar populações de grupos específicos como é o caso dos cetáceos (Read, 2015). Assim, a análise dos dados obtidos através de necrópsias em

organismos arrojados é por vezes o único meio possível para avaliar parâmetros reprodutivos para as espécies de pequenos cetáceos.

No entanto, esta abordagem por si só não permite uma avaliação do estado atual da população nem é suficiente para avaliar as necessidades das populações em perigo (Murphy, 2009; Read, 2015). A combinação de dados sobre os parâmetros da história de vida com dados sobre dieta, genética, estudos sobre contaminantes e estudos de animais arrojados, permitirá tirar conclusões mais fiáveis sobre o estado e a dinâmica das populações de pequenos cetáceos e desta forma melhorar os planos de conservação de forma a aumentar o sucesso dos mesmos (Read, 2015).

Devemos considerar também que as alterações globais afetam várias funções da reprodução (ovulação, produção de esperma, gravidez e desenvolvimento de embriões). Num sentido mais amplo, os poluentes no ambiente levam potencialmente à alteração da qualidade dos alimentos que todos os animais necessitam para o sucesso reprodutor, à alteração da sincronização sazonal de reprodução e dos eventos reprodutores, a distúrbios no desenvolvimento das gónadas e do embrião, o que eventualmente leva a que as espécies adaptem o seu comportamento e fenótipo (Holt *et al.* 2014).

Na costa Atlântica da Península Ibérica, o Boto constitui uma das espécies mais ameaçadas, devido ao reduzido tamanho da população residente, à baixa longevidade da mesma, e à forte aproximação à costa, e deve ter uma atenção redobrada e ser prioridade no que diz respeito a medidas de conservação para garantir a sua proteção. Além da elevada percentagem de fêmeas imaturas capturada é de salientar o elevado tamanho das cicatrizes encontradas, uma vez que demonstra que se tratam de cicatrizes recentes e consequentemente mostram que as fêmeas capturadas estão numa fase bastante ativa de reprodução, que ocorre nos primeiros anos após a maturação (Takahashi *et al.*, 2006). Ou seja, na população de Botos da costa continental portuguesa maioritariamente estão a arrojar fêmeas que ainda não entraram na idade de maturação ou fêmeas que iniciaram a sua atividade reprodutiva recentemente, o que torna ainda mais preocupante a persistência do Boto e urgente a sua proteção e preservação.

Quanto ao Golfinho-comum apesar de não se encontrar num estatuto tão problemático, utiliza zonas de baixa profundidade e próximas da costa para se alimentar e reproduzir e deve também ser tido em conta como prioridade na criação de medidas eficazes que garantam a sua proteção (Pereira, 2015; Read, 2015).

A criação de medidas de conservação deve sempre envolver as diferentes partes interessadas e afetadas, devendo sempre ter em conta a opinião de pescadores e cientistas (Read, 2015). Além disso, as medidas existentes devem ser sistematicamente reavaliadas e readaptadas uma vez que vão surgindo novos fatores que poderão condicionar a sua eficácia (Pereira, 2015).

CAPÍTULO 5

PRINCIPAIS CONCLUSÕES

- No presente estudo, foi possível analisar um número elevado de pequenos cetáceos ($n = 388$) que, apesar de bastante representativo, deverá ser incrementado em trabalhos futuros, especialmente para o Golfinho-riscado e para o Roaz, de maneira a tornar os resultados mais robustos.

- A captura accidental por artes de pesca determinou o arrojamento da maioria das fêmeas analisadas, o que poderá estar associado à elevada proporção de indivíduos imaturos detetados na amostra de fêmeas analisadas.

- A mortalidade mais elevada está associada às classes etárias mais jovens nas populações de Golfinho-comum, Golfinho-riscado, e particularmente, de Boto e assim, o recrutamento de novos indivíduos para a classe de indivíduos reprodutores será relativamente baixo (exceto no que se refere ao Roaz, espécie com um reduzido número de amostras analisadas).

- Considerando a elevada mortalidade de fêmeas imaturas de Boto, não será de prever um aumento na sua taxa de reprodução e sucesso reprodutivo, e a longo termo, não será de prever um aumento no número de efetivos na população da costa portuguesa.

- Ocorre um aumento geral nas dimensões dos ovários à medida que aumenta o comprimento total das fêmeas, com acumulação de corpos nos ovários de tipo III, de acordo com o que ocorre na maioria dos pequenos cetáceos. Para distinguirmos CAs de gestação dos CAs de ovulação, no futuro, deverá ser feita uma análise microscópica e histológica das cicatrizes.

- A utilização de informações provenientes de animais arrojados está sujeita a erros e enviesamentos, no entanto, continua a representar o meio mais importante para avaliar parâmetros reprodutivos em populações selvagens de pequenos cetáceos.

CAPÍTULO 6

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abel, D.C. and McConnell, R.L., (2009). Environmental oceanography: topics and analysis. *Jones & Bartlett Publishers*.
- Aguilar, A. & Gaspari, S. (2012). *Stenella coeruleoalba* (Mediterranean subpopulation). The IUCN Red List of Threatened Species 2012: e.T16674437A16674052. Disponível em www.iucnredlist.org (Acedido a 9 de Fevereiro de 2017)
- Álvarez-Salgado, X. A., Figueiras, F. G., Pérez, F. F., Groom, S., Nogueira, E., Borges, A. V., Chou, L., Castro, C. G., Moncoiffé, G., Ríos, A. F., Miller, A. E. J., Frankignoulle, M., Savidge, G. e Wollast, R. (2003). The Portugal coastal counter current off NW Spain: new insights on its biogeochemical variability. *Progress in Oceanography*, vol. 56, pp. 281-321.
- Araújo, H., Santos, J. Rodrigues, P., Vingada, J., Eira, C., Raínho, A., Arriegas, I., Leonardo, T., Nunes, M. & Sequeira, M. (2015). Proposta técnica de novos Sítios de Interesse Comunitário para a conservação de cetáceos em Portugal Continental para inclusão na Lista Nacional de Sítios. Anexo do Relatório de Progresso do *LIFE+ MarPro PT/NAT/00038*, pp. 182
- Archer, F. I. (2009). Striped Dolphin: *Stenella coeruleoalba*. In *Encyclopedia of Marine Mammals* (pp. 1127–1129).
- Aristegui J., Barton E. D., Alvarez-Salgado X. A., Santos A. M. P., Figueiras F. G., Kifani S., Hernández-León S., Mason E., Machú E., Demarcq H. (2009) Sub-regional ecosystem variability in the Canary Current upwelling. *Progress in Oceanography*, 83, 33-48.
- Atkinson, S. (2009). M – Male Reproductive Systems. In *Encyclopedia of Marine Mammals* (pp. 675–679).
- Azevedo, N.V.P. (2010). Cetaceans' Occurrence & behavioural patterns off the west Portuguese coast. Master thesis, Tese de Mestrado em Ecologia Marinha. Universidade de Lisboa Faculdade de Ciências, Departamento de Biologia Animal, Portugal.
- Ballance, L. & Moore, J. (2014) Potential Biological Removal Management, Framework under the Marine Mammal Protection Act. *Presentation to the Pacific Fishery Management Council*. (acedido a 18 de Setembro de 2017)
- Bearzi, G. (2003). *Delphinus delphis* (Mediterranean subpopulation). The IUCN Red List of Threatened Species 2003: e.T41762A10557372. Disponível em www.iucnredlist.org (Acedido a 9 de Fevereiro de 2017)

- Bearzi, G., Fortuna, C. & Reeves, R. (2012). *Tursiops truncatus* (Mediterranean subpopulation). The IUCN Red List of Threatened Species 2012: e.T16369383A16369386. Disponível em www.iucnredlist.org (Acedido a 9 de Fevereiro de 2017)
- Birkun Jr., A.A. & Frantzis, A. (2008). *Phocoena phocoena ssp. relicta*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T17030A6737111. Disponível em www.iucnredlist.org (Acedido a 9 de Fevereiro de 2017)
- Birkun Jr., A.A. (2008). *Delphinus delphis ssp. ponticus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T133729A3875256. Disponível em www.iucnredlist.org (Acedido a 9 de Fevereiro de 2017)
- Birkun, A. 2012. *Tursiops truncatus ssp. ponticus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2012: e.T133714A17771698. Disponível em www.iucnredlist.org (Acedido a 9 de Fevereiro de 2017)
- Bjørge, A., & Tolley, K. A. (2009). Harbor Porpoise: *Phocoena phocoena*. In *Encyclopedia of Marine Mammals* (pp. 530–533). <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-373553-9.00125-5>
- Brägger, S. & Chong, A.K., (1999). An application of close range photogrammetry in dolphin studies. *The Photogrammetric Record*, 16(93), pp.503-517.
- Brito, C., Vieira, N., Sá, E., & Carvalho, I. (2009). Cetaceans' occurrence off the west central Portugal coast: a compilation of data from whaling, observations of opportunity and boat-based surveys. *Journal of Marine Animals & Their Ecology*, 2(1), 10-13.
- Brook, F. M., Kinoshita, R., & Benirschke, K. (2002). Histology of the ovaries of a bottlenose dolphin, *Tursiops aduncus*, of known reproductive history. *Marine Mammal Science*, 18(2), 540-544.
- Bryden, M. M., Harrison, R. J., & Gemmell, R. T. (1984). The potential value of electron microscopy to elucidate the function of *corpora lutea* in small cetaceans. *Report of the International Whaling Commission (Special Issue 6)*, 211-213.
- Cabral, M. J. (coord.), Almeida, J., Almeida, P. R., Dellinger, T., Ferrand de Almeida, N., Oliveira, M. E., Palmeirim, M. J., Queiroz, A. I., Rogado, L. & Santos-Reis, M. (eds.) (2006). Livro Vermelho dos Vertebrados de Portugal. 2ª Edição. Instituto da Conservação da Natureza/Assírio e Alvim. Lisboa.
- Calzada, N., Aguilar, A., Sørensen, T. B., & Lockyer, C. (1996). Reproductive biology of female striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) from the western Mediterranean. *Journal of Zoology*, 240(3), 581-591.

- Certain, G., Ridoux, V., Canneyt, O. V. & Bretagnolle, V. (2008). Delphinid spatial distribution and abundance estimates over the shelf of the Bay of Biscay. *Oxford Journals*, pp. 656-666.
- Chivers, S. J. (2009). Cetacean Life History. In *Encyclopedia of Marine Mammals* (pp. 215–220).
- Chong, A.K. & Schneider, K., (2001). Two-medium photogrammetry for bottlenose dolphin studies. *Photogrammetric engineering and remote sensing*, 67(5), pp.621-628.
- Cordeiro, N. G. F. (2009). Estudo do afloramento ibérico: Filamentos e climatologia superficial. Tese de Mestrado. Universidade de Aveiro, Departamento de Física, pp. 2-3.
- Cozzi, B., Huguenberger, S. & Oelschläger, H.A., (2016). Anatomy of Dolphins: Insights Into Body Structure and Function. *Academic Press*.
- Culik, B. M. (2004). Review of small cetaceans. *Distribution, Behaviour, Migration and Threats. Regional Seas Reports and Studies*, 177.
- Currey, R.J.C., Dawson, S.M. & Slooten, E. (2011). *Tursiops truncatus* (Fiordland subpopulation). The IUCN Red List of Threatened Species 2011: e.T194300A67107359. Disponível em www.iucnredlist.org (Acedido a 9 de Fevereiro de 2017)
- Cury P. & Roy C. (1989) Optimal Environmental Window and Pelagic Fish Recruitment Success in Upwelling Areas. *Canadian Journal of fisheries and aquatic sciences*, 46, 670-680.
- Dabin, W., Cossais, F., Pierce, G. J., & Ridoux, V. (2008). Do ovarian scars persist with age in all Cetaceans: new insight from the short-beaked common dolphin (*Delphinus delphis* Linnaeus, 1758)? *Marine Biology*, 156(2), 127-139.
- Danil, K., & Chivers, S. J. (2007). Growth and reproduction of female short-beaked common dolphins, *Delphinus delphis*, in the eastern tropical Pacific. *Canadian Journal of Zoology*, 85(1), 108-121.
- Desai N., Ludgin J., Sharma R., Kumar A.J., Agarwal A. (2014) Female and Male Gametogenesis In: *Clinical Reproductive Medicine and Surgery: A Practical Guide. Springer*.
- Durban, J.W., Moore, M.J., Chiang, G., Hickmott, L.S., Bocconcelli, A., Howes, G., Bahamonde, P.A., Perryman, W.L. & LeRoi, D.J., (2016). Photogrammetry of blue whales with an unmanned hexacopter. *Marine Mammal Science*, 32(4), pp.1510-1515.

- Ferreira M. (compiler) (2016). Redes de arrojamentos e reabilitação de animais marinhos (2013-2016). Anexo ao 4º Relatório de Progresso do projeto *LIFE+ MarPro* (NAT/PT/00038)
- Ferreira, M., Marçalo, A., Nicolau, L., Araújo, H., Santos, J., Pinheiro, C., Lopes, T., Mendes, S., Vaqueiro, J., Medina, P., Cascalho, A., Sequeira, M., Eira, C., & Vingada, J. (2012). Estado atual das redes de arrojamentos e de reabilitação em Portugal Continental. Anexo do Relatório intercalar do projeto LIFE+ MarPro PT/NAT/00038.
- Ferreira, M.C.T. (2007). Ocorrência e captura acidental de cetáceos no Centro/Norte de Portugal. Tese Mestrado. Universidade do Minho.
- Fisher, H. D., & Harrison, R. J. (1970). Reproduction in the common porpoise (*Phocoena phocoena*) of the North Atlantic. *Journal of Zoology*, 161(2), 471-486.
- Fiúza, A. F. (1982). The Portuguese coastal upwelling system. IN: Actual Problems of Oceanography in Portugal. *Junta Nacional Investigação Científica e Tecnológica, Lisboa, Portugal*, pp. 46–70.
- Fontaine, M. C., Baird, S. J. E., Piry, S., Ray, N., Tolley, K. a, Duke, S., Jr Birkun, A., Ferreira, M., Jauniaux, T., Llavona, A., Öztürk, B., Öztürk, A., Ridoux, V., Rogan, E., Sequeira, M., Siebert, U., Vikingsson, G., Bouquegneau, J. & Michaux, J.R. (2007). Rise of oceanographic barriers in continuous populations of a cetacean: the genetic structure of harbour porpoises in Old World waters. *BMC Biology*, vol. 5, pp. 30.
- Fontaine, M. C., Roland, K., Calves, I., Austerlitz, F., Palstra, F. P., Tolley, K. A., Ryan, S., Ferreira, M., Jauniaux, T., Llavona, A., Öztürk, B., Öztürk, A.A., Ridoux, V., Rogan, E., Sequeira, M., Siebert, U., Vikingsson, G.A., Borrell, A., Michaux, J.R. & Aguilar, A. (2014). Postglacial climate changes and rise of three ecotypes of harbour porpoises, *Phocoena phocoena*, in western Palearctic waters. *Molecular Ecology*, vol. 23, n. 13, pp. 3306–3321.
- Fontaine, M. C., Tolley, K. a, Michaux, J. R., Birkun, A., Ferreira, M., Jauniaux, T., Llavona, A., Öztürk, B., Öztürk, A.A., Ridoux, V., Rogan, E., Sequeira, M., Bouquegneau, J. & Baird, S. J. E. (2010). Genetic and historic evidence for climate-driven population fragmentation in a top cetacean predator: the harbour porpoises in European water. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol. 277, pp. 2829–2837.
- Fordyce, R. E. (2009). Cetacean Evolution. In *Encyclopedia of Marine Mammals* (pp. 201–207).
- Fowler, C. W. (1984). Density dependence in cetacean populations. *Report of the International Whaling Commission, Special*, (6), 373-379.

- Fukui, Y. (2007). Ovary, oogenesis and ovarian cycle. In *Reproductive Biology and Phylogeny of Cetacea: Whales, Porpoises and Dolphins* (pp. 193–214). Science Publishers.
- George, J. C., Follmann, E., Zeh, J., Sousa, M., Tarpley, R., Suydam, R., & Horstmann-Dehn, L. (2011). A new way to estimate the age of bowhead whales (*Balaena mysticetus*) using ovarian corpora counts. *Canadian Journal of Zoology*, 89(9), 840-852.
- Gillespie, A. (2001). Small cetaceans, international law and the international whaling commission. *Melb. J. Int'l L.*, 2, 257.
- Goetz, S., Read, F. L., Santos, M. B., Pita, C. & Pierce, G. J. (2013). Cetacean –fishery interactions in Galicia (NW Spain): results and management implications of a face-to-face interview survey of local fishers. *ICES Journal of Marine Science*. pp. 1-14.
- Gol'din, P. & Gladilina, E., (2015). Small dolphins in a small sea: age, growth and life history aspects of the Black Sea common bottlenose dolphin *Tursiops truncatus*. *Aquatic Biology*, 23(2), pp.159-166.
- Hall, A. J., Hugunin, K., Deaville, R., Law, R. J., Allchin, C. R. & Jepson, P. D. (2006) The risk of infection from polychlorinated biphenyl exposure in the harbor porpoise (*Phocoena phocoena*): A case-control approach. *Environmental Health Perspectives*, 114, 704-711.
- Halpern, B.S., Longo, C., Lowndes, J.S.S., Best, B.D., Frazier, M., Katona, S.K., Kleisner, K.M., Rosenberg, A.A., Scarborough, C., Selig, E.R. (2015). Patterns and emerging trends in global ocean health. *PLoS One*, 10, e0117863.
- Halpern, B.S., Walbridge, S., Selkoe, K.A., Kappel, C.V., Micheli, F., D'Agrosa, C., Bruno, J.F., Casey, K.S., Ebert, C., Fox, H.E., Fujita, R., Heinemann, D., Lenihan, H.S., Madin, E.M.P., Perry, M.T., Selig, E.R., Spalding, M., Steneck, R., Watson, R. (2008). A global map of human impact on marine ecosystems. *Science*, 319, 948–952.
- Hammond, P.S., Bearzi, G., Bjørge, A., Forney, K., Karczmarski, L., Kasuya, T., Perrin, W.F., Scott, M.D., Wang, J.Y., Wells, R.S. & Wilson, B. (2008a). *Delphinus delphis*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T6336A12649851. Disponível em www.iucnredlist.org (Acedido a 9 de Fevereiro de 2017)
- Hammond, P.S., Bearzi, G., Bjørge, A., Forney, K., Karczmarski, L., Kasuya, T., Perrin, W.F., Scott, M.D., Wang, J.Y., Wells, R.S. & Wilson, B. (2008c). *Phocoena phocoena*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T17027A6734992. Disponível em www.iucnredlist.org (Acedido a 9 de Fevereiro de 2017)
- Hammond, P.S., Bearzi, G., Bjørge, A., Forney, K., Karczmarski, L., Kasuya, T., Perrin, W.F., Scott, M.D., Wang, J.Y., Wells, R.S. & Wilson, B. (2008b). *Stenella coeruleoalba*. The

- IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T20731A9223182. Disponível em www.iucnredlist.org (Acedido a 9 de Fevereiro de 2017)
- Hammond, P.S., Bearzi, G., Bjørge, A., Forney, K.A., Karczmarski, L., Kasuya, T., Perrin, W., Scott, M.D., Wang, J.Y., Wells, R.S. & Wilson, B. (2008d). *Phocoena phocoena* (Baltic Sea subpopulation). (errata version published in 2016) The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T17031A98831650. Disponível em www.iucnredlist.org (Acedido a 9 de Fevereiro de 2017)
- Hammond, P.S., Bearzi, G., Bjørge, A., Forney, K.A., Karkzmarski, L., Kasuya, T., Perrin, W.F., Scott, M.D., Wang, J.Y. & Wells, R.S. & Wilson, B. (2012). *Tursiops truncatus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2012: e.T22563A17347397. Disponível em www.iucnredlist.org (Acedido a 9 de Fevereiro de 2017)
- Harrison, R. J., & Ridgway, S. H. (1971). Gonadal activity in some bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *Journal of Zoology*, 165(3), 355-366.
- Helle, E., Olsson, M. & Jensen, S. (1976) PCB Levels Correlated with Pathological Changes in Seal Uteri. *Ambio*, 5, 261-262.
- Hohn, A. A., Read, A. J., Fernandez, S., Vidal, O., & Findley, L. T. (1996). Life history of the vaquita, *Phocoena sinus* (Phocoenidae, Cetacea). *Journal of Zoology*, 239(2), 235-251.
- Holt, W.V., Brown, J.L. & Comizzoli, P., (2014). Reproductive science as an essential component of conservation biology. In *Reproductive Sciences in Animal Conservation* (pp. 3-14). Springer New York.
- Honma, Y., Ushiki, T., Hashizume, H., Takeda, M., Matsuishi, T., & Honno, Y. (2004). Histological observations on the reproductive organs of harbor porpoises *Phocoena phocoena* incidentally caught in a set net installed off Usujiri, southern Hokkaido. *Fisheries science*, 70(1), 94-99.
- Hooker, S. K. (2009). Toothed Whales, Overview. In *Encyclopedia of Marine Mammals* (pp. 1173–1179).
- Hupman, K.E., Pawley, M.D., Lea, C., Grimes, C., Voswinkel, S., Roe, W.D. & Stockin, K.A., (2017). Viability of Photo-Identification as a Tool to Examine the Prevalence of Lesions on Free-Ranging Common Dolphins (*Delphinus* sp.). *Aquatic Mammals*, 43(3), p.264.
- Hutchings, J. A. & Baum, J. K. (2005) Measuring marine fish biodiversity: temporal changes in abundance, life history and demography. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 360, 315-338.

- Ivashin, M. V. (1984). Characteristics of ovarian *corpora* in dolphins and whales as described by Soviet scientists. *Rep. int. Whal. Commn (Spec. Iss.)*, 6, 433-44.
- Jefferson, T. A., Leatherwood, S., & Webber, M. A. (1993). FAO species identification guide. *Marine mammals of the world*. FAO, Rome.
- Kerem, D., Kent, R., Roditi-Elasar, M., Goffman, O., Scheinin, A. & Gol'din, P., (2013). Early physical maturation of female common bottlenose dolphin *Tursiops truncatus* in the eastern Levantine Basin. *Israel Journal of Ecology & Evolution*, 59(3), pp.154-162.
- Kuiken, T., & Hartmann, M. G. (1991). Proceedings of the First ECS Workshop on Cetacean Pathology: dissection techniques and tissue sampling: *Leiden, the Netherlands, 13-14 September 1991* (No. 17). European Cetacean Society (ECS).
- Lanyon, J.M. & Burgess, E.A., (2014). Methods to examine reproductive biology in free-ranging, fully-marine mammals. *In Reproductive Sciences in Animal Conservation* (pp. 241-274). *Springer New York*.
- Larese, J. P., & Chivers, S. J. (2009). Growth and reproduction of female eastern and whitebelly spinner dolphins incidentally killed in the eastern tropical Pacific tuna purse-seine fishery. *Canadian Journal of Zoology*, 87(6), 537-552.
- Lassalle, G., Gascuel, D., Le Loc'h, F., Lobry, J., Pierce, G. J., Ridoux, V., Santos, M. B., Spitz, J. & Niquil, N. (2012). An ecosystem approach for the assessment of fisheries impacts on marine top-predators: the Bay of Biscay case study. *ICES Journal of Marine Sciences*. 69. pp. 925 – 938.
- Lima, J.Y., Carvalho, A.P.M., Azevedo, C.T., Barbosa, L.A. & Silveira, L.S., (2017). Variation of age and total length in *Sotalia guianensis* (Van Bénédén, 1864) (Cetacea, Delphinidae), on the coast of Espírito Santo state, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 77(3), pp.437-443
- Lockyer, C. (2003) Harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) in the North Atlantic: Biological parameters. *NAMMCO Scientific Publications*, 5, 71-90.
- López, A. (2003). Estatus dos pequenos cetáceos da Plataforma de Galicia. Dissertação de Doutoramento. Universidade de Santiago.
- López, A., Pierce, G. J., Valeiras, X., Santos, M. B., & Guerra, A. (2004). Distribution patterns of small cetaceans in Galician waters. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 84(1), 283-294.
- López, A., Santos, M. B., Pierce, G. J., González, A. F., Valeiras, X. & Guerra, A. (2002). Trends in strandings and by-catch of marine mammals in north-west Spain during the 1990s. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 82. pp. 513-521.

- MacLeod, C. D., Santos, M. B., Reid, R. J., Scott, B. E. & Pierce, G. J. (2007) Linking sandeel consumption and the likelihood of starvation in harbour porpoises in the Scottish North Sea: could climate change mean more starving porpoises?. *Biology letters*, 3, 185-188.
- Manlik, O., McDonald, J.A., Mann, J., Raudino, H.C., Bejder, L., Krützen, M., Connor, R.C., Heithaus, M.R., Lacy, R.C. & Sherwin, W.B. (2016) The relative importance of reproduction and survival for the conservation of two dolphin populations. *Ecology and Evolution*, 6(11), 3496-3512.
- Mann, J. (2009). Parental Behaviour. In *Encyclopedia of Marine Mammals* (pp. 830–836).
- Margarido, I. R. (2015). Contribuição para a avaliação da dieta do Golfinho-comum (*Delphinus delphis*) na costa continental portuguesa. Tese Mestrado. Universidade de Aveiro.
- Marsh, H., & Kasuya, T. (1984). Changes in the ovaries of the short-finned pilot Whale, *Globicephalu mecrorhynchuso* with age and reproductive activity. *Report of the International Whaling Commission (Special issue 6)*, 311-335.
- Marsh, H., & Kasuya, T. (1986). Evidence for reproductive senescence in female cetaceans. *Report of the International Whaling Commission (Special issue 8)*, 57-74.
- Mason, E., (2017). Quantifying photogrammetric accuracy for measuring humpback whales using Unmanned Aerial Systems [available from dukespace.lib.duke.edu/dspace/handle/10161/14118]
- Miller, D.L. ed., (2016). Reproductive biology and phylogeny of cetacea: whales, porpoises and dolphins. *CRC Press*.
- Murphy, S., Collet, A., & Rogan, E. (2005). Mating strategy in the male common dolphin (*Delphinus delphis*): what gonadal analysis tells us. *Journal of Mammalogy*, 86(6), 1247-1258.
- Murphy, S., Pierce, G., Law, R., Bersuder, P., Jepson, P., Learmonth, J., Addink, M., Dabin, W., Santos, B., Deaville, R. & Zegers, B., (2010). Assessing the effect of persistent organic pollutants on reproductive activity in common dolphins and harbour porpoises. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science*, 42, p.153.
- Murphy, S., Winship, A., Dabin, W., Jepson, P., Deaville, R., Reid, R., Spurrier, C., Rogan, E., Lopez, A., Gonzalez, A. F., Read, F.L., Addink, M., Silva, M., Ridoux, V., Learmonth, J.A., Pierce, G.J. & Northridge, S.P. (2009). Importance of biological parameters in assessing the status of *Delphinus delphis*. *Marine Ecology Progress Series* 388, 273–291.

- Ohsumi, S. E. I. J. I. (1964). Comparison of maturity and accumulation rate of *corpora albicantia* between the left and right ovaries in Cetacea. *Sci Rep Whales Res Inst*, 18, 123-148.
- Oli, M. K., & Dobson, F. S. (2003). The relative importance of life-history variables to population growth rate in mammals: Cole's prediction revisited. *The American Naturalist*, 161(3), 422-440.
- Pereira, A. (2015). Monitorização do uso costeiro por pequenos cetáceos e avaliação do uso de pingers para mitigação de capturas acidentais na região norte de Portugal. Tese Mestrado. Universidade do Porto.
- Pereira, A. R. (1991). A margem continental portuguesa. Breve síntese do conhecimento actual. *Finisterra*, 26(51).
- Perrin, W. F. (2009). Common Dolphins: *Delphinus delphis* and *Delphinus capensis*. In *Encyclopedia of Marine Mammals* (pp. 255–259).
- Perrin, W. F., & Donovan, G. P. (1984). Report of the workshop. *Report of the International Whaling Commission, (Special Issue 6)*, 1-24.
- Perrin, W. F., & Reilly, S. B. (1984). Reproductive parameters of dolphins and small whales of the family *Delphinidae*. *Report of the International Whaling Commission (Special Issue 6)*, 97-133.
- Perryman, W.L. and Lynn, M.S., 1993. Identification of geographic forms of common dolphin (*Delphinus delphis*) from aerial photogrammetry. *Marine Mammal Science*, 9(2), pp.119-137
- Pierce, G. J., Caldas, M., Cedeira, J., Santos, M. B., Llavona, Á., Covelo, P., Martinez, G., Torres, J., Sacau, M. & López, A. (2010). Trends in cetacean sightings along the Galician coast, north-west Spain, 2003 – 2007, and inferences about cetacean *habitat* preferences. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, vol. 90, n. 8, pp. 1547–1560.
- Pierce, G. J., Santos, M. B., Murphy, S., Learmonth, J. A., Zuur, A. F., Rogan, E., Bustamante, P., Caurant, F., Lahaye, V., Ridoux, V., Zegers, B. N., Mets, A., Addink, M., Smeenk, C., Jauniaux, T., Law, R. J., López, A., Alonso, Farré, J. M., González, A. F., Guerra, A., García-Hartmann, M., Reid, R. J., Moffat, C. F., Lockyer, C. & Boon, J. P. (2008) Bioaccumulation of persistent organic pollutants in female common dolphins (*Delphinus delphis*) and harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) from western European seas: Geographical trends, causal factors and effects on reproduction and mortality. *Environmental Pollution*, 153, 401-415.

- Plön, A., & Bernard, R. T. F. (2016). Anatomy with particular reference to the female. *Reproductive Biology and Phylogeny of Cetacea: Whales, Porpoises and Dolphins*, 147.
- Pomeroy, P. (2011). Reproductive cycles of marine mammals. *Animal reproduction science*, 124(3), 184-193.
- Read, F. L. (2015) Understanding Cetacean and Fisheries Interactions in the North-West Iberian Peninsula. Tese Doutoramento. Universidade de Vigo.
- Reid, J. B., Evans, P. G., & Northridge, S. P. (2003). Atlas of cetacean distribution in north-west European waters. *Joint Nature Conservation Committee*.
- Rosas, F. C. W. (2000). Interações com a pesca, mortalidade, idade, reprodução e crescimento de *Sotalia guianensis* e *Pontoporia blainvillei* (Cetacea, *Delphinidae* e *Pontoporiidae*) no litoral sul do Estado de São Paulo e litoral do Estado do Paraná, Brasil. *Universidade Federal do Paraná. Tese de Doutoramento*.
- Rosas, F.C.W., Barreto, A.S. &Monteiro-Filho, E.L.D.A., (2003). Age and growth of the estuarine dolphin (*Sotalia guianensis*) (Cetacea, *Delphinidae*) on the Paraná coast, southern Brazil. *Fishery Bulletin*, 101(2), pp.377-383.
- Rose, C. D., & Hassler, W. W. (1974). Food habits and sex ratios of dolphin *Coryphaena hippurus* captured in the western Atlantic Ocean off Hatteras, North Carolina. *Transactions of the American Fisheries Society*, 103(1), 94-100.
- Rowe, S. J. (2007). *A review of methodologies for mitigating incidental catch of protected marine mammals*. Science & Technical Pub., Department of Conservation.
- Santos J., Araújo, H., Ferreira, M., Henriques, A., Miodonski, J., Monteiro, S., Oliveira I., Rodrigues P., Duro, G., Oliveira, F., Pinto, N., Sequeira, M., Eira, C. & Vingada, J. (2012). Chapter I: Baseline estimates of abundance and distribution of target species. Annex to the Midterm Report of project *LIFE+ MarPro PT/NAT/00038*.
- Santos, M.B., Saavedra, C. and Pierce, G.J., 2014. Quantifying the predation on sardine and hake by cetaceans in the Atlantic waters of the Iberian Peninsula. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 106, pp.232-244.
- Santos, M.B., Saavedra, C., Pierce, G.J., 2013 Cuantificación de la depredación de los pequeños cetáceos sobre especies comerciales en aguas atlánticas de la Península Ibérica. *VI Conferencia anual de la Sociedad Española de Cetáceos (SEC)*, Tarifa
- Sequeira M. & Ferreira C. (1994) Coastal fisheries and cetacean mortality in Portugal. *Report of the International Whaling Commission*, Special Issue 15, 165-181.

- Sequeira, M. (1996). Harbour porpoises. *Phocoena phocoena*, in Portuguese waters. *Report of the International Whaling Commission*, 46, 583-586.
- Siciliano, S., Ramos, R.M.A., Di Benedetto, A.P.M., Santos, M.C.O., Fragoso, A.B., Brito, J.L., Azevedo, A.F., Vicente, A.F., Zampiroli, E., Alvarenga, F.S. and Barbosa, L., (2007). Age and growth of some delphinids in south-eastern Brazil. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 87(1), pp.293-303.
- Silva, M. A., & Sequeira, M. (2003). Patterns in the mortality of common dolphins (*Delphinus delphis*) on the Portuguese coast, using stranding records, 1975-1998. *Aquatic mammals*, 29(1), 88-98.
- Simmonds, M. P. & Isaac, S. J., (2007) The impacts of climate change on marine mammals: early signs of significant problems. *Oryx*, 41, 19-26.
- Spyrakos, E., Santos-Diniz, T. C., Martinez-Iglesias, G., Torres-Palenzuela, J. M., & Pierce, G. J. (2011). Spatiotemporal patterns of marine mammal distribution in coastal waters of Galicia, NW Spain. *Hydrobiologia*, vol. 670, n. 1, pp. 87–109.
- Stephanis, R., Cornulier, T., Verborgh, P. Sierra, J. S., Gimeno, N.P. & Guinet, C. (2008). Summer spatial distribution of cetaceans in the Strait of Gibraltar in relation to the oceanographic context. *Marine Ecology Progress Series*, vol. 353, pp. 275–288.
- Stewart, R. E. A., & Stewart, B. E. (2009). Female Reproductive Systems. In *Encyclopedia of Marine Mammals (Second Edition)* (pp. 423–428).
- Takahashi, Y., Ohwada, S., Watanabe, K., Ropert-Coudert, Y., Zenitani, R., Naito, Y., & Yamaguchi, T. (2006). Does elastin contribute to the persistence of *corpora albicantia* in the ovary of the common dolphin (*Delphinus delphis*). *Marine mammal science*, 22(4), 819-830.
- Tarpley, R. J., Hillmann, D. J., George, J. C., Zeh, J. E., & Suydam, R. S. (2016). Morphometric Correlates of the Ovary and Ovulatory *Corpora* in the Bowhead Whale, *Balaena mysticetus*. *The Anatomical Record*, 299(6), 769-797.
- Thewissen, J. G. M. (2009). Archaeocetes, archaic. In *Encyclopedia of Marine Mammals* (pp. 46–48).
- Tsuji, T., Yokoyama, M., Asano, M., & Suzuki, M. (2013). Estimation of the fertility rates of Japanese wild boars (*Sus scrofa leucomystax*) using fetuses and *corpora albicans*. *Acta theriologica*, 58(3), 315-323.
- Vingada, J., A. Marçalo, M. Ferreira, C. Eira, A. Henriques, J. Miodonski, N. Oliveira, D. Marujo, A. Almeida, N. Barros, I. Oliveira, S. Monteiro, H. Araújo, J. Santos. (2012). Capítulo I: Interações entre as espécies alvo e as pescas. *Anexo ao relatório intercalar do projeto LIFE+ MarPro NAT/PT/00038*.

- Vingada, J., Ferreira, M., Marçalo, A., Santos, J., Araújo, H., Oliveira, I., Monteiro, S., Nicolau, L., Gomes, P., Tavares, C. & Eira, C. (2011). SafeSea - Manual de Apoio para a Promoção de uma Pesca Mais Sustentável e de um mar seguro para cetáceos; Programa EEAGrants - EEA Financial Mechanism 2004-2009 (Projeto 0039), Braga.
- Weber Rosas, F. C., & Monteiro-Filho, E. L. (2002). Reproduction of the estuarine dolphin (*Sotalia guianensis*) on the coast of Paraná, southern Brazil. *Journal of Mammalogy*, 83(2), 507-515.
- Wells, R. S., & Scott, M. D. (2009). Common Bottlenose Dolphin: *Tursiops truncatus*. In *Encyclopedia of Marine Mammals* (pp. 249–255). <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-373553-9.00062-6>
- Westgate, A. J., & Read, A. J. (2007). Reproduction in short-beaked common dolphins (*Delphinus delphis*) from the western North Atlantic. *Marine Biology*, 150(5), 1011.

